Clécio Danilo Dias da Silva | Daniele Bezerra dos Santos
(Organizadores)

Explorando a vida em uma jornada pelas CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

Atena Editora
Ano 2024

Clécio Danilo Dias da Silva | Daniele Bezerra dos Santos
(Organizadores)

Explorando a vida em uma jornada pelas
CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

Ano 2024

Editora chefe
Profª Drª Antonella Carvalho de Oliveira
Editora executiva
Natalia Oliveira
Assistente editorial
Flávia Roberta Barão
Bibliotecária
Janaina Ramos
Projeto gráfico
Ellen Andressa Kubisty
Luiza Alves Batista
Nataly Evilin Gayde
Thamires Camili Gayde
Imagens da capa
iStock
Edição de arte
Luiza Alves Batista

Os manuscritos nacionais foram previamente submetidos à avaliação cega por pares, realizada pelos membros do Conselho Editorial desta editora, enquanto os manuscritos internacionais foram avaliados por pares externos. Ambos foram aprovados para publicação com base em critérios de neutralidade e imparcialidade acadêmica.

A Atena Editora é comprometida em garantir a integridade editorial em todas as etapas do processo de publicação, evitando plágio, dados ou resultados fraudulentos e impedindo que interesses financeiros comprometam os padrões éticos da publicação. Situações suspeitas de má conduta científica serão investigadas sob o mais alto padrão de rigor acadêmico e ético.

CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE

Explorando a vida em uma jornada pelas ciências biológicas

Diagramação: Camila Alves de Cremo
Correção: Yaiddy Paola Martinez
Indexação: Amanda Kelly da Costa Veiga
Revisão: Os autores
Organizadores: Clécio Danilo Dias da Silva
Daniele Bezerra dos Santos

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

E96 Explorando a vida em uma jornada pelas ciências biológicas / Organizadores Clécio Danilo Dias da Silva, Daniele Bezerra dos Santos. – Ponta Grossa - PR: Atena, 2024.

Formato: PDF
Requisitos de sistema: Adobe Acrobat Reader
Modo de acesso: World Wide Web
Inclui bibliografia
ISBN 978-65-258-3071-1
DOI: https://doi.org/10.22533/at.ed.711242211

1. Ciências biológicas. I. Silva, Clécio Danilo Dias da (Organizador). II. Santos, Daniele Bezerra dos (Organizadora). III. Título.

CDD 570

Elaborado por Bibliotecária Janaina Ramos – CRB-8/9166

Atena Editora
Ponta Grossa – Paraná – Brasil
Telefone: +55 (42) 3323-5493
www.atenaeditora.com.br
contato@atenaeditora.com.br

DECLARAÇÃO DO AUTOR

Para fins desta declaração, o termo 'autor' será utilizado de forma neutra, sem distinção de gênero ou número, salvo indicação em contrário. Da mesma forma, o termo 'obra' refere-se a qualquer versão ou formato da criação literária, incluindo, mas não se limitando a artigos, e-books, conteúdos on-line, acesso aberto, impressos e/ou comercializados, independentemente do número de títulos ou volumes. O autor desta obra: 1. Atesta não possuir qualquer interesse comercial que constitua um conflito de interesses em relação à obra publicada; 2. Declara que participou ativamente da elaboração da obra, preferencialmente na: a) Concepção do estudo, e/ou aquisição de dados, e/ou análise e interpretação de dados; b) Elaboração do artigo ou revisão com vistas a tornar o material intelectualmente relevante; c) Aprovação final da obra para submissão; 3. Certifica que a obra publicada está completamente isenta de dados e/ou resultados fraudulentos; 4. Confirma a citação e a referência correta de todos os dados e de interpretações de dados de outras pesquisas; 5. Reconhece ter informado todas as fontes de financiamento recebidas para a consecução da pesquisa; 6. Autoriza a edição da obra, que incluem os registros de ficha catalográfica, ISBN, DOI e demais indexadores, projeto visual e criação de capa, diagramação de miolo, assim como lançamento e divulgação da mesma conforme critérios da Atena Editora.

DECLARAÇÃO DA EDITORA

As Ciências Biológicas desempenham um papel fundamental na compreensão da vida em todas as suas formas, abrangendo desde organismos unicelulares até ecossistemas complexos. Por meio de pesquisas sistemáticas e criteriosas, cientistas buscam desvendar os mistérios da biodiversidade, explorar as interações entre os seres vivos e desenvolver soluções inovadoras para os desafios enfrentados pela humanidade, como doenças, mudanças climáticas e conservação ambiental. Este livro, “Explorando a Vida em uma Jornada pelas Ciências Biológicas”, reúne contribuições de autores de universidades nacionais e internacionais, oferecendo uma visão abrangente e atualizada sobre diversos temas relevantes dentro dessa vasta área do conhecimento.

O Capítulo 1, de autoria de Vinicius Alves e Paula Zama, tem como principal objetivo realizar o levantamento e a comparação da macrofauna de artrópodes cavernícolas em duas grutas localizadas em Pains, Minas Gerais. Os resultados mostraram um alto índice de diversidade nas cavidades estudadas, e a realização deste estudo contribuiu significativamente para a documentação da fauna de artrópodes da região, servindo como base para pesquisas futuras na área.

O Capítulo 2, escrito por Rosângela Maria Rodrigues Barbosa e colaboradores, tem como objetivo identificar e avaliar o potencial dos extratos de manga (*Mangifera indica*), acerola (*Malpighia emarginata*) e arruda (*Ruta graveolens* L.) na atratividade, repelência e estimulação da oviposição do *Aedes aegypti*. Os resultados obtidos podem orientar novas abordagens para o monitoramento e controle vetorial, além de possibilitar o desenvolvimento de produtos biotecnológicos, como iscas para armadilhas e repelentes tópicos para uso humano.

O Capítulo 3, de autoria de Alejandro Correa Rueda, investigou e descreveu os sinais acústicos do *Scytalopus antarcticus* (Churrín de Navarino), uma espécie enigmática encontrada nos bosques relictos de *Nothofagus* na Ilha Navarino, Região Subantártica do Chile. O estudo teve como objetivo comparar essas vocalizações com o chamado do *Scytalopus magellanicus* (Churrín Andino) para confirmar a classificação do Churrín de Navarino como uma espécie distinta. A análise revelou que o Churrín de Navarino possui uma chamada territorial com notas de alta intensidade, repetidas sucessivamente, diferindo significativamente do chamado do Churrín Andino. As evidências acústicas e fenotípicas reforçam a classificação do Churrín de Navarino como uma espécie distinta.

O Capítulo 4, de autoria de José Ricardo Ferreira Guedes e colaboradores, tem como objetivo analisar o perfil químico e a atividade antibacteriana do óleo essencial dos bulbilhos de *Allium sativum* L. em comparação com a alicina. Trata-se de uma revisão integrativa da literatura com abordagem descritiva, projetada

para tratar de forma imparcial e abrangente os principais aspectos desse tema. Os autores notaram que o perfil químico dos bulbilhos de *Allium sativum* L. possui potencial relevante para a investigação da atividade antibacteriana de seu óleo essencial, quando comparado à alicina. Assim, a exploração dessas propriedades pode abrir caminho para novas aplicações terapêuticas e benefícios à saúde.

O Capítulo 5, de autoria de Maria Guadalupe Maldonado Blanco, avaliou a atividade antibacteriana dos exudados produzidos por cinco cepas do fungo entomopatógeno *Hirsutella citriformis*, bem como por filtrados de cultivo líquido, testados contra sete cepas bacterianas patogênicas. Nos resultados dos filtrados de cultivo, quatro cepas fúngicas demonstraram inibição do crescimento de pelo menos uma espécie bacteriana, destacando-se o filtrado da cepa de Colima, que apresentou uma inibição superior a 10 mm contra *L. monocytogenes* e *B. subtilis*. Por outro lado, a cepa fúngica de Yucatán mostrou inibição de 2 mm contra *B. cereus* e *L. monocytogenes*. A importância deste estudo reside na sua contribuição para o desenvolvimento de novos agentes antibacterianos, essenciais para o combate a infecções bacterianas, especialmente em um contexto de crescente resistência a antibióticos convencionais.

Esses capítulos não apenas ampliam o conhecimento nas respectivas áreas de estudo, mas também destacam a relevância das pesquisas em Ciências Biológicas para o avanço da ciência e a promoção de novas descobertas que beneficiem a sociedade. Além disso, a Atena Editora se apresenta como uma plataforma organizada e científica para a divulgação de pesquisas relevantes, proporcionando um espaço para a troca de conhecimento e a disseminação de informações que podem impactar positivamente as práticas científicas e a educação. A editora, ao apoiar publicações de alta qualidade, contribui para o fortalecimento da pesquisa científica e a formação de uma comunidade acadêmica mais integrada e informada.

Agradecemos a todos os leitores e colaboradores que tornaram este livro possível e esperamos que ele inspire novas investigações e reflexões sobre a fascinante jornada da vida nas Ciências Biológicas.

Clécio Danilo Dias da Silva
Daniele Bezerra dos Santos

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1

LEVANTAMENTO E COMPARAÇÃO DA MACROFAUNA DE ARTRÓPODES EM DUAS GRUTAS DE PAINS, MINAS GERAIS, BRASIL

Data de submissão: 21/10/2024 *Data de aceite: 01/11/2024*

Vinicius L. Alves
Departamento de Ciências Naturais e da Terra, Universidade do Estado de Minas Gerais
Minas Gerais, Brasil.

Paula C. Zama
Departamento de Ciências Naturais e da Terra, Universidade do Estado de Minas Gerais
Minas Gerais, Brasil.

RESUMO. Cavidades naturais subterrâneas ou cavernas são conhecidas por sua estabilidade ambiental em relação às alterações do meio externo. Sendo assim, cavidades são locais que possuem características facilitadoras à realização de estudos, uma vez que sua área é delimitada fisicamente pela projeção de seus condutos, permitindo uma amostragem mais eficiente. Este estudo teve como principal objetivo realizar um levantamento e uma comparação da macrofauna de artrópodes cavernícolas em duas grutas de Pains, Minas Gerais. Os trabalhos de campo ocorreram em quatro coletas utilizando busca ativa com plotagem de espécies, abrangendo os períodos de seca e de chuva. O estudo ocorreu em duas cavidades, a Gruta da Divisa e a Coqueiro II, localizadas dentro da Mineração Saldanha LTDA. Ao todo foram contabilizados 399 espécimes de 11 ordens diferentes, destes, 193 indivíduos foram coletados na Gruta da Divisa e 206 na Gruta Coqueiro II. As ordens mais coletadas foram Diptera com 143 espécimes e Araneae com 140 indivíduos. As cavidades apresentaram riqueza total de 39 espécies, Índice de Shannon de 2,89, Índice de Simpson de 0,91 e Equitatividade de 1,82. Quando comparadas por meio de análises rarefeitas do índice de Shannon, a fauna de indivíduos pertencentes a Insecta apresentam diferenças, porém em Arachnida não. Além disso, foi coletado um miriápode troglófilo e registrada a primeira ocorrência de um espécime da família Mantispidae para cavidades da região. A partir dos resultados obtidos, as cavidades estudadas mostraram um alto índice de diversidade, ademais a realização deste estudo contribuiu para a documentação da fauna de artrópodes da região, servindo como base para futuros estudos na área.
PALAVRAS-CHAVE. Arachnida, Insecta, espeleologia, cavidades, espeleobiologia.

ABSTRACT. Survey and comparison of arthropod macrofauna in two caves at Pains,

Minas Gerais, Brazil. Caves are known for their environmental stability in relation to outside changes. Consequently, cavities facilitate studies since its area is physically delimited by the projection of the conduits, allowing a complete sampling. The main objective of this study was to survey and compare the arthropods macrofauna of two caves in Pains, MG. The field works took place in four collections using active search with species plotting, which covered the dry and rainy periods. The study happened in two cavities, Gruta da Divisa and Coqueiro II, located inside Mineração Saldanha LTDA. Totally, 399 specimens of 11 different orders were recorded, which 193 individuals were collected in Gruta da Divisa and 206 in Coqueiro II. The most collected orders were Diptera with 143 specimens and Araneae with 140 individuals. The cavities had a total richness of 39 species, Shannon Index of 2.89, Simpson Index of 0.91 and Equitability of 1.82. When the caves were compared by rarefied analyzes of Shannon index, the Insecta fauna present differences, but no one was checked in Arachnida. Besides, a troglophilous myriapod was collected and a specimen of Mantispidae is the first record of the family in the region. Based on the results obtained, the cavities studied showed a high level of diversity. In addition, this study contributed to document the arthropod fauna in the region and works as reference for future studies.
KEYWORDS. Arachnida, Insecta, speleology, cavity, speleobiology.

A espeleologia possui essência multidisciplinar e abrange diversas áreas do conhecimento como: geografia, geologia, biologia entre outras (Cruz & Piló, 2019). Assim, estudos que envolvem a biologia e a espeleologia são chamados de espeleobiologia, que nada mais é que um ramo da biologia que estuda os ambientes subterrâneos, abordando os aspectos ecológicos e evolutivos deste ecossistema (Trajano *et al.*, 2012).

É um consenso entre os especialistas da área, que o clima geral no interior da caverna é muito mais estável do que os ambientes da superfície. A partir disso, nota-se que a temperatura no interior das cavidades, geralmente, representa a média anual da região, e assim, as cavernas tropicais são conhecidas por suas elevadas temperaturas em relação a cavidades de climas temperados (Poulson & White, 1969).

O fato da ausência permanente de luz dentro das cavernas impedir o estabelecimento de espécies fotossintetizantes, faz com que a base da cadeia produtiva (produção primária) destes ambientes fique a cargo de organismos quimioautotróficos, como bactérias que utilizam o ferro e enxofre para se desenvolver (Sarbu *et al.,* 1996). Uma segunda e principal fonte de alimento para os organismos cavernícolas é obtida por meio do ambiente externo. Animais podem levar material orgânico para dentro das cavidades, como morcegos que depositam guano e corujas que regurgitam bolotas. Além disso, agentes abióticos, como água e vento, podem carreia matéria orgânica, como folhas, carcaças de animais mortos, pólen e madeira, para o interior das cavidades, criando depósitos de serrapilheira ideais para o desenvolvimento de vários organismos (Gnaspini-Netto, 1989). Uma terceira via de aporte de nutrientes externos para os animais cavernícolas são as raízes de árvores que penetram as paredes da cavidade e ficam expostas (Silva, 2008). Visto isso, é de se esperar que a distribuição dos indivíduos que vivem dentro cavidade seja influenciada por

inúmeros fatores, dentre eles a disponibilidade de alimento e matéria orgânica em seu interior, onde temos uma forte correlação entre os organismos e o tipo de depósito orgânico (Poulson & Culver, 1969).

Neste contexto, o estudo dos animais em cavernas permite identificar características morfológicas singulares de cada um, observar sua história de vida e registrar adaptações necessárias para vida no ambiente cavernícola. Sendo assim, elas possuem um grande potencial de estudo e de pesquisa científica, porque diferente dos vários ambientes existentes na superfície, dentro das cavernas, é possível estudar os diferentes organismos, comunidades e suas relações abrangendo toda sua área de distribuição que é delimitada pelos condutos, dentro da cavidade (Poulson & White, 1969).

Levantamentos de fauna contribuem para caracterizar a cavidade e classificar sua relevância de forma correta. É importante lembrar que as espécies existentes nas cavidades e aspectos abióticos, como os espeleotemas, são testemunhas da evolução do planeta (Poulson & White, 1969), e contêm milhares de anos de história geológica e registros do clima da região (Timo, 2014), o que reforça a importância de garantir a conservação destes ambientes. A classificação das cavernas pode se enquadrar entre as categorias: máximo, alto, médio ou baixa relevância, levando em consideração seu patrimônio espeleológico, a área de influência, sua geometria e componentes estruturais que formam o Carste (Brasil, 2009). Após a classificação e compilação dos dados coletados é possível elaborar medidas de conservação efetivas e singulares da realidade de cada cavidade.

Pains é a cidade com o maior número de cavidades registradas em Minas Gerais e no Brasil (ICMBIO, 2022). Atualmente, segundo dados do Cadastro Nacional de Informações Espeleológicas (Brasil, 2021), existem cerca de 2.400 cavidades subterrâneas naturais registradas somente no município de Pains. O alto índice de ocorrência e, consequentemente, de registros de cavidades se explica devido à geologia da região ser composta por rochas solúveis, a respeito o calcário, fator que favorece o processo de dissolução e a gênese destes ambientes (ICMBIO, 2022).

Tendo em vista a importância do ambiente cavernícola e da necessidade de se conhecer cada carste, o objetivo do presente trabalho foi realizar um levantamento da macrofauna de artrópodes em duas grutas de Pains e comparar aspectos gerais desses dois ambientes. Por se tratar de ambientes pouco explorados, espera-se também contribuir com informações biológicas e espeleológicas para futuros estudos e para possíveis propostas de conservação das grutas.

MATERIAIS E MÉTODOS

Área de estudo**.** O município de Pains e seu entorno estão inseridos em uma geologia de rocha calcária, localmente é possível notar feições características como lapiás, dolinas, afloramentos e grandes maciços além da vegetação característica, conhecida como Mata

de Pains (Melo *et al.*, 2013). A Mineração Saldanha se localiza próximo a região central do município, onde deu início em suas operações por volta da década de 80. As cavidades estudadas, Gruta da Divisa e Coqueiro II, estão inseridas próximas a área de lavra da mineração (Fig.1), estando antes oclusas e descobertas em detrimento das atividades minerarias.

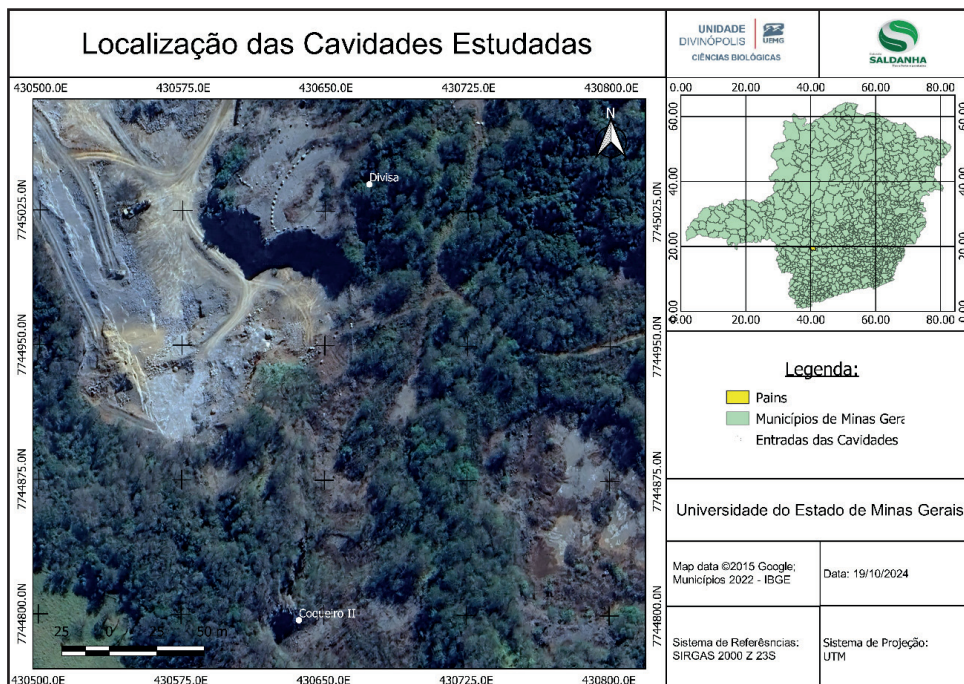
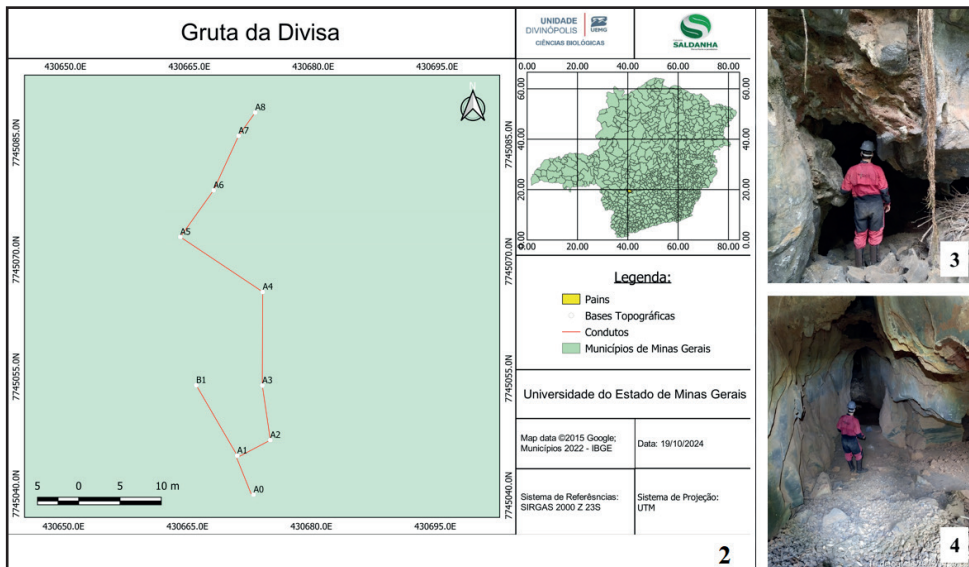
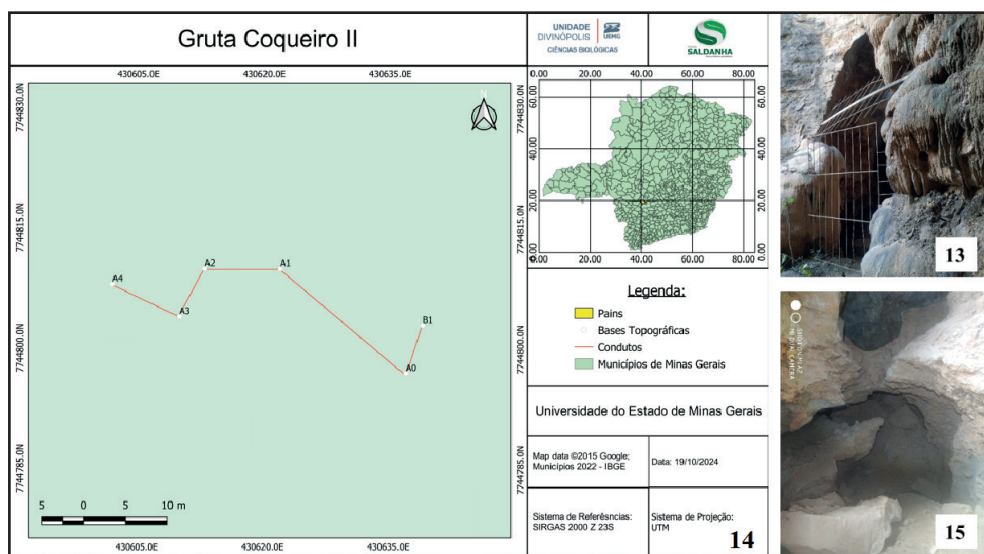
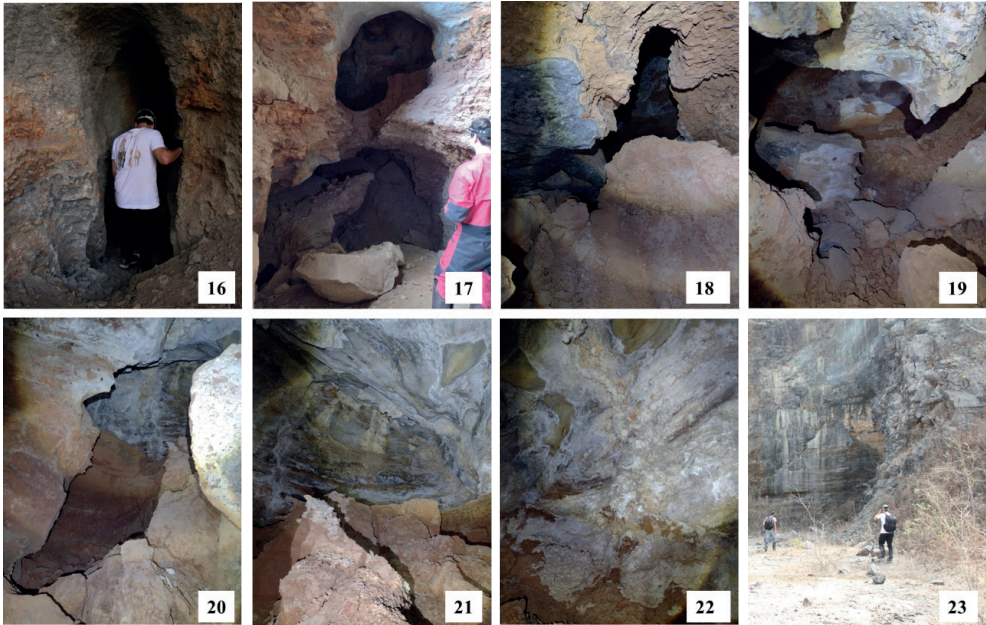



Fig. 1. Mapa da área de estudo no município de Pains – MG, mostrando a localização das duas cavidades selecionadas para estudo. Alves 2024.

A Gruta da Divisa (20°23’29,86”S, 45°39’51,80”W) é uma cavidade de alta relevância em meio a uma antiga cava de extração onde as operações foram suspensas a muitos anos (Fig. 1). Por ser um local de fácil acesso e já ter sido bastante explorada, é possível perceber ações antrópicas, como pichações, em sua entrada. A gruta está próxima a cota do Rio São Miguel e foi alvo de inundações ao longo dos anos, fato que pode ser comprovado através da presença de marcas nas paredes de seus condutos evidenciando o nível atingido pela água durante a cheia. A Gruta da Divisa possui desenvolvimento linear de aproximadamente 279 metros (Fig. 2) e ao longo de seus condutos é possível observar a existência de diversos depósitos de serrapilheira que podem se tornar biótopos perfeitos para diversos organismos (Figs 3, 4). A cavidade possui zoneamento incompleto com a presença de zona eufótica e disfótica, seus condutos foram divididos em nove bases amostrais (Figs 2, 5-12).

Figs 2-4. 2) Projeção horizontal da Gruta da Divisa, com a identificação das bases amostrais (QGIS Development Team); 3) Entrada da cavidade, base A0; 4) Base A1 com marcas de inundações nas paredes.

Figs 5-12. Bases amostrais existentes na Gruta da Divisa. 5) B1; 6) A2; 7) A3; 8) A4; 9) A5; 10) A6; 11) A7; 12) A8.

A Gruta Coqueiro II (20°23’37,76”S, 45°39’53,10”W) também é uma cavidade de alta relevância devido a seus atributos que lhe conferem grande beleza cênica. Situada

próxima à Gruta da Divisa, seu acesso é relativamente fácil, sendo realizado pela estrada que liga a antiga cava à planta de beneficiamento seguida por um pequeno trecho de mata fechada em estado de recomposição (Fig. 1). Devido ao fácil acesso, foi instalado um portão de proteção e cadeado em sua entrada para evitar a entrada de pessoas não autorizadas pelos órgãos ambientais (Fig. 13). Por este motivo, nota-se uma cavidade bem preservada de ações antrópicas, apesar da fragilidade e proximidade da lavra. A cavidade possui desenvolvimento linear de aproximadamente 49 metros e zoneamento incompleto, com a presença apenas de zona eufótica e disfótica (Fig. 14). Em seu interior há pouca deposição de serrapilheira (Fig. 15), no entanto, próximo a sua entrada é possível observar bolotas regurgitadas, penas, ossos e guano. Em seus condutos é possível observar que apesar da geologia calcaria existe grande quantidade de solo (Figs. 16-23). Em seu interior também é possível visualizar alguns espeleotemas únicos, como a flor de gipsita (Fig. 22).

Figs 13-15. 13) Base amostral A0; 14) Projeção horizontal dos condutos da cavidade Coqueiro II (QGIS Development Team); 15) Base amostral A1.

Figs. 16-22. Bases amostrais existentes na cavidade Coqueiro II. 16) B1; 17) A1; 18) A1; 19) A2; 20) A3; 21) A4; 22) Espeleotema flor de gipsita em A3; 23) Parte externa do maciço onde se localiza a cavidade.

Amostragens. A metodologia adotada para este estudo foi a de coleta manual com plotagem de espécies, como proposta por Ferreira (2004).

Para o georreferenciamento dos espécimes coletados, foi utilizado como base os mapa topográfico das cavidades das Grutas da Divisa e Coqueiro II, extraído dos estudos de licenciamento ambiental da Mineração Saldanha. Esta medida foi necessária uma vez que não existe sinal de GPS no interior da gruta. A partir do mapa topográfico foram determinadas as bases amostrais, nomeadas "A" e "B", correspondendo respectivamente aos pontos demarcados no conduto principal da cavidade e aos pontos demarcados em condutos secundários, ambas seguidas de sua sequência numérica (Figs 2, 14). Estes pontos foram utilizados para monitoramento da temperatura e umidade durante a coleta e para apontar a localização dos indivíduos coletados em relação a extensão da cavidade. Os espécimes coletados foram etiquetados e armazenados em potes com álcool 70%.

Concluída a etapa de acondicionamento, as amostras foram transportadas até o laboratório de Zoobotânica da Universidade do Estado de Minas Gerais, unidade Divinópolis (UEMG-Divinópolis) onde foi realizada a identificação de cada animal coletado, até o menor nível taxonômico possível. A identificação dos Arachnida foi baseada em Candiani *et al.* (2005), Ázara *et al.* (2013), Brescovit *et al.* (2003), ICMBIO (2013), Chavari *et al.* (2014), Tourinho *et al.* (2007) e Harvestmen (2007). A identificação dos Insecta foi realizada através de Bérenger & Gil-Santana (2005), Reuben (1994), Carvalho *et al.* (2002), Ribeiro

et al. (2007), Leite & De Sá (2010), Rafael *et al.* (2012), Baccaro *et al.* (2015) e Barreto & Wandscheer (2017). Ademais, foi realizada consulta a especialistas para identificação de alguns indivíduos coletados.

O material coletado em campo e fixado será depositado na coleção didática da UEMG-Divinópolis e no Centro de Coleções Taxonômicas da Universidade Federal de Minas Gerais (CCT-UFMG), sendo disponibilizado posteriormente para comunidade.

Análises. Após tabulação dos dados obtidos durante a pesquisa, foi mensurada a riqueza de espécies para cada cavidade amostrada, almejando avaliar o número de diferentes espécies que vivem em cada gruta. Também foram realizados cálculos padrões para os índices de diversidade de Shannon, visando mensurar a diversidade de cada ambiente, e o índice de Simpson, análise que também avalia a diversidade, porém de forma menos sensível (este cálculo foi realizado utilizando como base 1 – Diversidade). Como o desenvolvimento horizontal das cavidades e consequentemente suas áreas são diferentes, adicionalmente foram realizadas análises de rarefação com base na riqueza de espécies e diversidade de Shannon. Este cálculo permitiu comparar a diferença entre os índices de riqueza e diversidade de Shannon das cavidades amostradas. Optou-se por fazer repetições de todas as análises para os seguintes grupos: amostra total (N total), Insecta e Arachnida. Todos os cálculos realizados foram executados por meio da linguagem de programação R (R Core Team, 2022).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Ao todo foram realizadas quatro coletas, sendo a 1ª e a 2ª realizadas nas dadas de 24/07 e 18/09, contemplando a estação seca, e a 3ª e a 4ª nas datas de 29/10 e 21/11, abrangendo a estação chuvosa.

Ao fim dos trabalhos de campo, foram contabilizados 399 espécimes coletados, sendo estes representantes de 11 ordens diferentes (Tab. I). Destes, 193 indivíduos foram coletados na Gruta da Divisa e 206 na Gruta Coqueiro II. A ordem mais coletada foi Diptera com 143 espécimes, seguida por Araneae com 140, Lepidoptera com 38, Hymenoptera com 26, Hemiptera com 19, Psocodea com 12, Orthoptera com nove, Opiliones com cinco, Neuroptera com quatro, Spirostreptida com dois e, por fim, Blattaria com apenas um indivíduo coletado.

No período de seca (jun. a set.), foi observado um menor número de indivíduos (119 spp.), representando 8 ordens (Tab. I). Enquanto no período de chuva (out. e nov.), foi observado uma abundância maior de espécimes (280 spp.) de 11 diferentes ordens (Tab. I).

Grupos	Ordem	Família	Espécie	Gruta da Divisa				Gruta Coqueiro II			
				Período Seca		Período Chuva		Período Seca		Período Chuva	
				1ª	2ª	3ª	4ª	1ª	2ª	3ª	4ª
Arachnida	Araneae	Araneidae	sp.1	3	1	7	3	0	0	2	0
		Dipluridae	sp.1	0	0	0	1	0	0	0	0
		Ischnothelidae	sp.1	0	0	0	1	0	0	0	1
		Pholcidae	sp.1	3	9	14	7	1	2	1	1
			sp.2	2	4	4	4	0	0	0	0
		Salticidade	sp.1	0	0	0	0	0	0	0	1
		Scytodidae	sp.1	1	0	0	1	0	0	3	2
		Sicariidae	*Loxosceles sp.1*	0	0	0	0	2	8	10	6
			Loxosceles sp.2	0	0	0	0	1	17	9	7
			sp.1	0	0	1	0	0	0	0	0
	Opiliones	Gonyleptidae	*Mitogoniella taquara*	2	1	1	1	0	0	0	0
Insecta	Blattaria	Blattidae	sp.1	0	0	1	0	0	0	0	0
	Diptera	Anthomyiidae	sp.1	0	0	0	0	0	1	0	0
		Culicidae	*Culex* sp.	1	0	1	2	0	0	0	2
		Limoniidae	sp.1	2	9	9	10	0	1	1	1
		Muscidae	sp.1	1	9	0	1	2	4	2	3
		Psychodinae	*Philosepedon* sp.	1	0	1	0	0	0	0	0
		Tipulidae	sp.1	0	0	0	0	0	0	0	1
			sp.1	0	0	0	0	0	0	26	48
			sp.2	0	0	2	0	0	0	2	0
	Hemiptera	Reduviidae	*Zelurus* sp.	0	0	2	3	0	2	6	4
			Cosmoclopius sp.	0	0	0	0	0	0	1	0
		Achilixiidae	sp. 01	0	0	1	0	0	0	0	0
	Hymenoptera	Apidae	*Trigona* sp.	0	0	0	1	0	0	0	0
			Plebeia sp.	0	0	0	0	0	0	1	1
		Formicidae	sp.1	0	3	2	11	0	4	0	0
		Vespidae	*Mischocyttarus cassununga*	0	0	0	0	1	0	2	0
	Lepidoptera	Erebidae	sp.1	3	6	2	11	5	1	1	3
		Noctuidae	sp.1	0	0	0	1	0	0	0	0
		Tineidae	sp.1	1	0	0	1	0	0	0	3
	Neutoptera	Crysopidae	sp.1	0	0	0	0	0	0	0	1
		Mantispidae	sp.1	0	0	1	2	0	0	0	0
	Orthoptera	Acrididae	sp.1	0	0	0	0	0	0	1	0
		Phalangopsidae	*Strinatia* sp.	0	3	1	0	0	0	0	0
			sp.1	0	0	0	4	0	0	0	0

	Psocodea		sp.1	1	1	1	1	0	0	0	1
			sp.2	0	0	0	7	0	0	0	0
Miriapoda	Diplopoda	Pseusonannolenidae	*Pseudonannolene* sp.	0	0	2	0	0	0	0	0

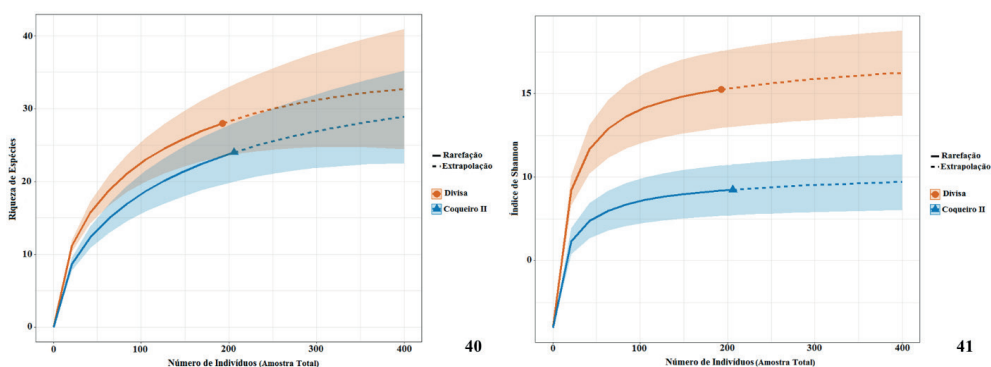
Tab. I. Descrição e abundância dos táxons coletados nas cavidades amostradas durante as estações de seca e chuva.

Figs 24-39. 24) Mantispidae sp.1; 25 e 35) Erebidae sp.1; 26) *Loxosceles* sp.1; 27) Crysopidae sp.1; 28) Psocodea sp.1; 29) Psocodea sp.2; 30 e 39) Phalangopsidae sp.1; 31) Ischnothelidae sp.1; 32) *Zelurus* sp.1; 33) *Mitogoniella taquara*, 34) Pholcidae sp.1; 36) Abdome de Dipluridae sp.1; 37) Cefalotórax de Dipluridae sp.1; 38) *Plebeia* sp.

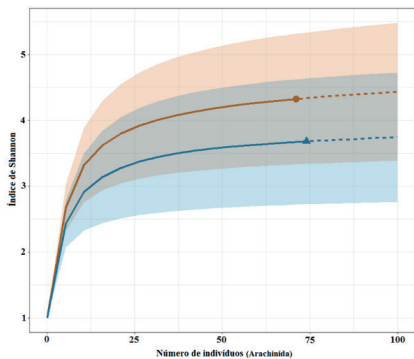
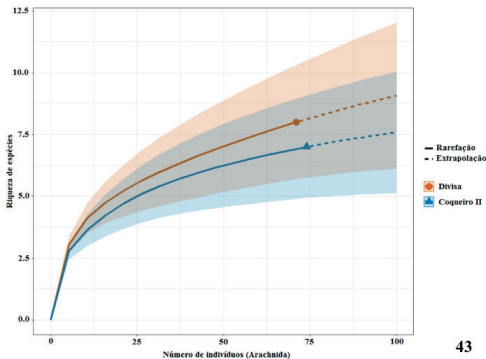
Ao todo foram identificadas 38 diferentes espécies de artrópodes cavernícolas (Figs. 24-39), sendo apenas dois identificados até o nome específico e o restante morfotipadas.

Considerando toda a amostra (Ntotal), os cálculos do índice de diversidade mostram que a Gruta da Divisa tem riqueza de 28 espécies e a Coqueiro II de 24. O índice de Shannon para Gruta da Divisa é de 2,72 nats, para Coqueiro II é de 2,22 nats e o Índice de

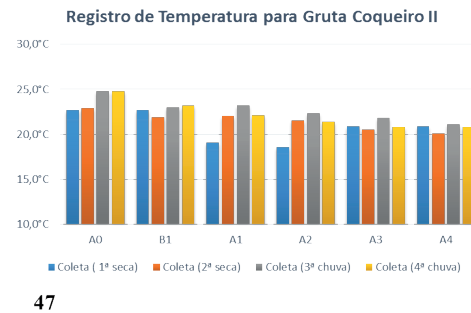
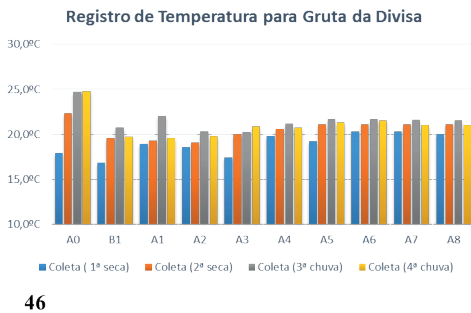
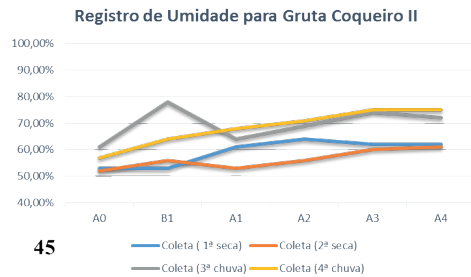
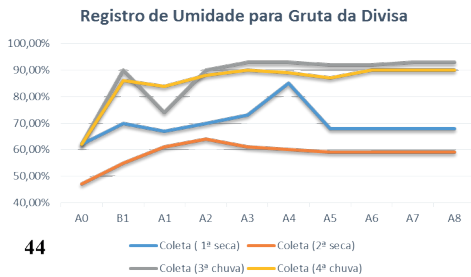
Shannon total é de 2,89 nats. O índice de Simpson para a Gruta da Divisa foi de 0,90, para Coqueiro II de 0,81 e Simpson total de 0,91. A equitatividade foi calculada em 0,81 para a Gruta da Divisa, de 0,69 para a Coqueiro II e 1,82 como Equitatividade total.

Utilizando as análises de rarefação, os resultados apontam que ao comparar as cavidades não existe uma diferença significativa entre as grutas quando utilizado como métrica a riqueza de espécies (Fig. 40). No entanto, ao comparar as cavidades utilizando o Índice de Shannon rarefeito, os cálculos apontam uma diferença de aproximadamente dez pontos entre a diversidade das cavidades (Fig. 41). Este resultado provavelmente se deve ao fato do teste de Shannon-Wiener ser mais sensível do que a análise de riqueza, quantificando valores diferentes a cada espécie de acordo com a sua raridade (Da-Silva *et al.*, 2022).

Figs 40-41. Curvas de rarefação para o grupo Ntotal, considerando as coletas realizadas entre julho-novembro/2022 nas grutas Coqueiro II e Gruta da Divisa, na região cárstica de Pains (Minas Gerais, Brasil): 40) rarefação baseada na riqueza de espécies; 41) rarefação baseada no índice de Shannon (R Core Team, 2022).

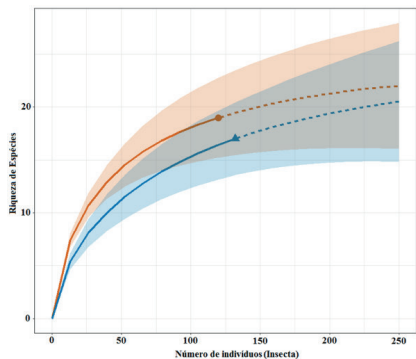
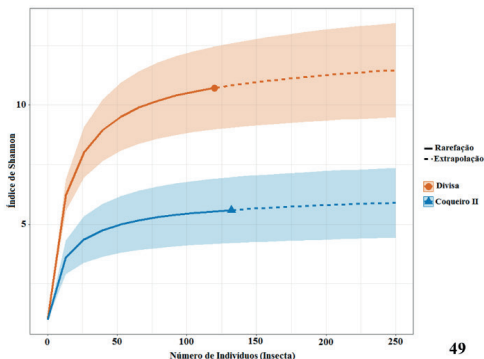
Foram realizadas as mesmas análises para os dois grandes grupos mais coletados de artrópodes. Para os aracnídeos obteve-se uma riqueza de oito espécies na Gruta da Divisa e de sete na Coqueiro II, além de uma riqueza total de 11. O Índice de Shannon para aracnídeos, apontam para uma diversidade de 1,46 nats na Gruta da Divisa, 1,30 nats na Coqueiro II e Shannon total de 1,89 nats. Já o Índice de Simpson retornou a diversidade de 0,69 na Gruta da Divisa, 0,65 para Coqueiro II e 0,81 como Simpson total. Em relação a Equitatividade, a Gruta da Divisa apresentou índice de 0,70, a Coqueiro II de 0,66 e Equitatividade total de 1,81 para Aracnídeos.

Ao comparar as cavidades tanto pelo Índice de Shannon rarefeito (Fig. 42) como pela riqueza rarefeita (Fig. 43), as análises indicam que não existem diferenças significativas entre a fauna de aracnídeos das cavidades. É possível ver que as curvas de rarefação e extrapolação se mantém sobrepostas desde o início ao fim da coleta de dados (Figs 42, 43).

Figs 42-43. Curvas de rarefação para o grupo Arachnida considerando as coletas realizadas entre julho-novembro/2022 nas grutas Coqueiro II e Gruta da Divisa, na região cárstica de Pains (Minas Gerais, Brasil): 40) rarefação baseada na riqueza de espécies; 41) rarefação baseada no índice de Shannon (R Core Team, 2022).

Ainda sobre os aracnídeos, as coletas apontaram uma predominância de aranhas do gênero *Loxosceles* Heineken & Lowe, 1832 (Fig.26) na cavidade Coqueiro II (Tab. I). Dentre os fatores que contribuem para o sucesso de sua colonização, Fischer & Vasconcellos-Neto (2003) trazem em seu estudo que as aranhas deste gênero possuem grande resistência à escassez de alimentos e à amplitude de temperatura, tendo algumas espécies sobrevivido em locais com temperaturas acima de 40°C. Além disso, aranhas-marrons, nome pelo qual também são conhecidas aqui no Brasil (Valdez-Mondragón *et al.*, 2018), preferem habitats quentes em locais com rochas, fendas e rachaduras, como as grutas, para se esconderem (Bertani *et al.,* 2015). Desta forma, por ser a cavidade mais quente a Gruta Coqueiro II parece ser um ambiente mais favorável para estes indivíduos. Além disso, nessa cavidade também foi registrado um número maior de dípteros (Tab. I) e esses animais podem ser potenciais presas das aranhas na cavidade. Apesar da proximidade entre as grutas, não houve registros de *Loxosceles* na Gruta da Divisa.

Outra situação interessante sobre os aracnídeos após as coletas foi a ausência de opiliões na gruta Coqueiro II (Fig. 33). Como os opiliões utilizam substratos como folhas, madeiras e serrapilheira para fazer a deposição de seus ovos e são extremamente sensíveis às mudanças de temperatura e umidade, talvez a gruta Coqueiro II não seja um ambiente propício para eles (Harvestmen, 2007). Na Gruta da Divisa foi registrada temperatura média em torno de 20.0°C (Fig. 46), sendo esta a temperatura ótima para incubação dos ovos dos opiliões (Harvestmen, 2007). Desse modo, por ter maior umidade relativa, além de ter muita serrapilheira (com grandes depósitos na entrada próximo aos locais onde estes indivíduos foram coletados), a Gruta da Divisa se mostra mais favorável a este grupo de aracnídeos.

Figs 44-47. Registros de temperatura e umidade nos pontos amostrais das cavidades durante as coletas de seca e chuva. 44-45) Umidade relativa nas grutas da Divisa e Coqueiro II; 46-47) Temperatura relativa nas grutas da Divisa e Coqueiro II.

Em relação aos indivíduos coletados do grupo Insecta, a riqueza registrada foi de 19 espécies na Gruta da Divisa, 17 na Coqueiro II e riqueza total de 27. Já o Índice de Shannon registrou diversidade de 2,37 nats para Gruta da Divisa, 1,72 nats para Coqueiro II e Shannon total de 2,41 nats. O Índice de Simpson resultou uma diversidade de 0,86 para Gruta da Divisa, 0,66 para Coqueiro II e Simpson total de 0,85. Quanto à equitatividade do grupo Insecta, a Gruta da Divisa apresentou índice de 0,80 e a Coqueiro II 0,60, com a total de 1,68.

Ao comparar as cavidades por meio da rarefação, os cálculos mostram que ao utilizar como métrica a riqueza de espécies para Insecta não existe diferença significativa entre as cavidades, onde provavelmente na extrapolação do teste as linhas se cruzaram em algum momento com o aumento do esforço amostral (Fig. 48). Já em relação às análises tendo o Índice de Shannon como métrica, o gráfico ilustra que existe uma diferença entre a diversidade das cavidades do início ao fim das coletas, com a Gruta da Divisa mostrando um índice superior ao da Coqueiro II, sendo inclusive mantida na extrapolação do gráfico (Fig. 49).

Figs 48-49. Curvas de rarefação para o Grupo Insecta considerando as coletas realizadas entre julho-novembro/2022 nas grutas Coqueiro II e Gruta da Divisa, na região cárstica de Pains (Minas Gerais, Brasil): 40) rarefação baseada na riqueza de espécies; 41) rarefação baseada no índice de Shannon (R Core Team, 2022).

Ainda sobre Insecta, a fauna amostrada destaca-se pelo registro de uma espécie não identificada de neuróptera da família Mantispidae (Fig.24) que parece ser um grupo incomum nas cavidades da região, já que não foi registrado em outros estudos (Zampaulo, 2010; Soares *et al.,* 2013). Os indivíduos foram registrados na Gruta da Divisa nas 3ª e 4ª coletas, estando localizados no teto dentro da cavidade em zona eufótica a aproximadamente 3 metros da entrada. Também foi registrada a presença de duas espécies da ordem Psocoptera nas cavidades amostradas (Tab. I). A espécie identificada como sp.2 (Fig.28) apresentou ocorrência maior na Gruta da Divisa, porém foi comum em ambas cavidades, já sp. 1 (Fig.29) apresentou ocorrência restrita na Gruta da Divisa. No entanto, por limitações de técnica, equipamento adequado e tempo, não foi possível realizar a identificação ao nível de família ou inferior.

Outro registro interessante foi a ocorrência de uma espécie não identificada de diplopoda do gênero *Pseudonannolene* Silvestri, 1895. Esse registro foi realizado na Gruta da Divisa, durante a 3ª coleta, localizado entre as bases A4 e A5, numa região eufótica próximo a uma mancha de guano. Indivíduos deste gênero são espécies comuns em ambientes cavernícolas, sendo classificados como animais troglófilos, ou seja, aqueles que podem ou não completar todo ciclo de vida dentro da cavidade (ICMBIO, 2019).

Assim como outros estudos relacionados a inventários de artrópodes cavernícolas, os indivíduos mais abundantes nesta pesquisa foram, de modo geral, os detritívoros e os predadores não específicos, como por exemplo, os dípteros e os aracnídeos. Observações similares também foram encontradas em estudos na região de Pains (Zampaulo, 2010; Soares *et al.,* 2013) e em outros lugares do Brasil (Ferreira et al., 2010; Simões et al., 2012; Ferreira et al., 2016; Bichuette et al., 2019). Isso provavelmente se deve ao fato de que existe uma grande ocorrência destes indivíduos no meio epígeo, fator que aumenta a probabilidade de sua presença na cavidade. Dessa forma, as coletas abrangeram desde a

entrada da cavidade (na região da caverna onde temos maiores similaridades de condições ecológicas com o meio externo), até o fim de seus condutos (onde normalmente temos maior estabilidade ambiental), evitando a exclusão de áreas potenciais, como indica Trajano *et al.* (2006).

Quando comparado, nota-se que o índice médio de diversidade das duas cavidades amostradas foi de 2.47 nats, se mostrando um pouco mais alto do que o relatado por Soares *et al.* (2013) em seu estudo de cavidades no município de Córrego Fundo, MG. Os resultados das análises também indicam que a Gruta da Divisa possui um maior índice de diversidade total em relação a Coqueiro II, esta informação pode ser explicada devido a diferença do desenvolvimento linear das cavidades, onde a Divisa possui aproximadamente 279m e a Coqueiro II 45m. Alguns estudos evidenciam esta relação de riqueza versus área, onde as cavidades maiores possuem maior heterogeneidade de micro hábitats, proporcionando um maior aporte de nutrientes e consequentemente maior diversidade de organismos (Ferreira, 2005; Sousa-Silva, 2008; Sousa-Silva & Ferreira, 2009).

Outros fatores ambientais também podem ser determinantes para que haja essa diferença entre a riqueza e a diversidade de espécies nas cavidades. A Gruta da Divisa é um pouco mais fria e úmida do que a Coqueiro II (Figs 44-47). A média dos dados coletados referentes à umidade e à temperatura ao longo dos condutos de ambas cavidades mostra que a Gruta da Divisa possui umidade relativa de 78,25% e temperatura de 20,90°C, enquanto a Coqueiro II apresenta 65,50% e 21,73°C, respectivamente.

As diferenças ambientais encontradas entre as grutas podem tornar a cavidade Coqueiro II menos propicia à colonização de organismos que necessitam de um ambiente mais úmido (Bichuette et al., 2019). Além disso, essa cavidade não apresenta grandes acúmulos de serrapilheira, manchas de guano ou drenagens que poderiam contribuir com o aporte de nutrientes e sucesso de uma fauna diversificada (Poulson & Lavoie, 2000). Já a Gruta da Divisa possui fatores que podem facilitar a colonização de diferentes grupos de artrópodes (Tab. I), como temperatura menor e umidade mais alta (Figs 44, 46), maior estabilidade ambiental, um grande acúmulo de serrapilheira, manchas de guano e presença de drenagem. Adicionalmente, a Gruta da Divisa possui no fim de seu conduto principal uma claraboia, que permite a entrada de alimento carreados pela chuva, vento e/ou animais que eventualmente possam se abrigar na cavidade (Bichuette *et al.*, 2017).

Ademais, mesmo após os trabalhos de campo, a assíntota no gráfico de coleta não foi atingida (Fig. 40). O aumento do esforço amostral poderia contribuir para que a mesma fosse alcançada, porém Ferreira (2004), traz em seu estudo realizado em cavidades no Rio Grande do Norte, os riscos aos danos causados a estes ecossistemas quando submetidos a uma coleta exaustiva. Além disso, mesmo após o aumento do esforço amostral não existem garantias que a assíntota de coleta seria atingida, como ocorreu nos estudos de Soares *et al.* (2013), realizado em 28 cavidades, e Zampaulo (2010), realizado em 296 cavidades. Esta situação provavelmente se deve a heterogeneidade dos habitats cavernícolas, onde

existem locais como fraturas, frestas e/ou blocos grandes que dificultam ou impossibilitam sua amostragem (Ferreira, 2005).

Por fim, mesmo tendo o maior número de cavidades registradas em todo Brasil, estudos que envolvem a espeleobiologia são escassos no municio de Pains. Este é um fator preocupante, uma vez que estes ambientes sofrem maiores pressões antrópicas a cada dia. Indivíduos cavernícolas são muito sensíveis quanto a interferências em seus habitats, onde pequenas alterações podem culminar no declínio inteiro de uma comunidade. Neste contexto este estudo contribuiu para o conhecimento da fauna de invertebrados cavernícolas da região, registrando uma espécie até então sem ocorrência documentada, além de fornecer dados ecológicos sobre as cavidades amostradas, servindo como base para futuros estudos na área.

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer a minha professora e orientadora Paula Zama pela contribuição durante os trabalhos de campo, identificação e escrita deste projeto. Agradeço também a colaboração do professor Wellington Donizet pela ajuda com as identificações e análises ecológicas. Agradeço a meus amigos e também discentes do curso de Ciências Biológicas, Pedro Paulo e Thiago Vilella que tiveram papel fundamental durante as coletas dos indivíduos. Por fim, agradeço a direção da Mineração Saldanha LTDA e a Deise Miola por se prontificarem e facilitarem a realização deste estudo.

REFERÊNCIAS

Alves, Vinicius Luiz. Mapa Localização das Cavidades Estudadas. Escala 1:1400. Setembro de 2024. **Usando: QGIS [software GIS]. Versão 3.16. QGIS Geographic Information System. Open Source Geospatial Foundation Project. http://qgis.osgeo.org, 2024.**

Baccaro, F. B., Feitosa, R. M., Fernandez, F., Fernandes, I. O., Izzo, T. J., Souza, J. L. P., & Solar, R. (2015). Guia para os gêneros de formigas do Brasil. **Editora INPA** (p. 388). https://doi.org/10.5281/zenodo.32912

Barreto, M. R., & Wandscheer, R. B. (2017). Registro de Ortópteros (Orthoptera, Caelifera, Ensifera) presentes no Acervo Biológico da Amazônia Meridional, Brasil. **EntomoBrasilis**, 10(3), 187–193. https://doi.org/10.12741/ebrasilis.v10i3.663

Bérenger, J.-M., & Gil-Santana, H. (2005). Nouveau genre et nouvelles espèces d'Ectrichodiinae d'Amérique du Sud (Heteroptera, Reduviidae). **Bulletin de La Société Entomologique de France**, 110(4), 509–516. https://doi.org/10.3406/bsef.2005.16271

Bertani, R., Godé, L., Kury, A., & Célérier, M. L. (2015). Aracnídeos (Arachnida): Da reserva biológica de pedra talhada. **Boissiera**, 68, 175–191.

Bichuette, M. E., Nascimento, A. R., Von Schimonsky, D. M., Gallão, J. E., Resende, L. P. A., & Zepon, T. (2017). Terrestrial fauna of the largest granitic cave from Southern Hemisphere, southeastern Brazil: A neglected habitat. **Neotropical Biology and Conservation**, 12(2). https://doi.org/10.4013/nbc.2017.122.01

Bichuette, M. E., Simões, L. B., Zepon, T., von Schimonsky, D. M., & Gallão, J. E. (2019). Richness and taxonomic distinctness of cave invertebrates from the northeastern state of Goiás, central Brazil: A vulnerable and singular area. **Subterranean Biology**, 29, 1–33. https://doi.org/10.3897/subtbiol.29.30418

BRASIL, Instrução Normativa N° 2, De 20 de Agosto de 2009. Regulamenta os Atributos a Serem Levados em Consideração para Classificação Quanto a Relevância da Cavidade. Disponível em: **<https://www.icmbio.gov.br/cecav/images/download/IN%2002_MMA_criterios_210809.pdf>. Acesso: 30/01/2023**.

Brasil.Centro Nacional De Pesquisa E Conservação De Cavernas. Cadastro Nacional de Informações Espeleológicas – CANIE, 2021. Disponível em: **https://www.icmbio.gov.br/cecav/canie.html. Acesso em: 25/01/2023**

Brescovit, Antonio D; Bonaldo, Ad; Bertani, R & Rheims, Ca. Araneae. In: Amazonian Arachnida and Myriapoda - Keys for the identification to classes, orders, families, some genera, and lists of know species. **Pensoft, Sofia-Moscow**.

Candiani, D. F., Indicatti, R. P., & Brescovit, A. D. (2005). Composição e diversidae da araneofauna (Araneae) de serapilheira em três florestas urbanas na cidade de São Paulo, São Paulo, Brasil. **Biota Neotropica**, 5(1a), 111–123. https://doi.org/10.1590/s1676-06032005000200010

Carvalho, C. J. B. de, Moura, M. O., & Ribeiro, P. B. (2002). Chave para adultos de dípteros (Muscidae, Fanniidae, Anthomyiidae) associados ao ambiente humano no Brasil. **Revista Brasileira de Entomologia**, 46(2), 107–144. https://doi.org/10.1590/s0085-56262002000200001

Chavari, J. L., Cipola, N. G., & Brescovit, A. D. (2014). Records of spiders (Arachnida: Araneae) of the parque estadual mata São Francisco, Paraná, Brazil. **Check List**, 10(6), 1435–1444. https://doi.org/10.15560/10.6.1435

Da-Silva Fernando Rodrigues; Gonçalves-Souza Thiago; Paterno Gb; Provete Db; Vancine Mh. 2022. Análises ecológicas no R. **Nupeea**: Recife, PE, Canal 6: São Paulo. 640 p. ISBN 978-85-7917-564-0.

De Ázara, L. N., Dasilva, M. B., & Ferreira, R. L. (2013). Description of *Mitogoniella mucuri* sp. nov. (Opiliones: Gonyleptidae) and considerations on polymorphic traits in the genus and Gonyleptidae. **Zootaxa**, 3736(1), 69–81. https://doi.org/10.11646/zootaxa.3736.1.3

Ferreira R. L. 2004. A medida da complexidade ecológica e suas aplicações na conservação e manejo de ecossistemas subterrâneos. Tese apresentada ao programa de pós-graduação em Ecologia Conservação e Manejo da Vida Silvestre do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil, 158pp.

Ferreira, R. L., Cardoso, R. C., & Souza Silva, M. (2016). Composição, riqueza e diversidade de invertebrados em cavernas de Dianópolis (TO). **Revista Brasileira de Espeleologia**, 2(7), 1–18.

Ferreira, R. L., Prous, X., Bernardi, L. F. O., & Souza Silva, M. (2010). Fauna subterrânea do estado do Rio Grande do Norte: Caracterização e impactos. **Revista Brasileira de Espeleologia**, 1(1), 25–51.

FERREIRA, R.L. A vida subterrânea nos campos ferruginosos. **O Carste**. 17(3):106-115. 2005.

FISCHER, M. L., & VASCONCELLOS-NETO, J. (2003). Determination of the maximum and minimum lethal temperatures (LT 50) for *Loxosceles intermedia* Mello-Leitão, 1934 and *L. laeta* (Nicolet, 1849) (Araneae, Sicariidae). **Journal of Thermal Biology**, 28(8), 563–570. https://doi.org/10.1016/j.jtherbio.2003.07.002

GNASPINI NETTO, P. (1989). Analise comparativa da fauna associada a depositos de guano de morcegos cavernicolas no Brasil. Primeira aproximacao. **Revista Brasileira de Entomologia**, 33(2), 183–192.

HARVESTMEN: the biology of Opiliones. (2007). **Choice Reviews Online**, 44(11), 44-6238-44–6238. https://doi.org/10.5860/choice.44-6238

INSTITUTO CHICO MENDES DE CONSERVAÇÃO DA BIODIVERSIDADE – ICMBIO. A região cárstica de Pains / Luís B. Piló e Jocy Brandão Cruz. (org). – Brasília: **ICMBio**, 2022.

INSTITUTO CHICO MENDES DE CONSERVAÇÃO DA BIODIVERSIDADE. Aranhas do Parque Nacional do Itatiaia, Rio De Janeiro/Minas Gerais, Brasil / Indicatti, Rafael.P. **Boletim de pesquisa do Parque Nacional do Itatiaia**, n°16: 1-35. ISSN - 1677-6569. 2013.

INSTITUTO CHICO MENDES DE CONSERVAÇÃO DA BIODIVERSIDADE. Espeleologia e Licenciamento Ambiental / Jocy Brandão Cruz e Luís Beethoven Piló. [org] – Brasília: **ICMBio**, 2019.

LEITE, GERMANO LEÃO DEMOLIN & DE SÁ, VERÍSSIMO GIBRAN MENDES. Apostila: Taxonomia, Nomenclatura e identificação de espécies. **Universidade Federal de Minas Gerais, Instituto de Ciências Agrárias**, v. 50, 2010.

MELO, P. H. A. DE, LOMBARDI, J. A., SALINO, A., & CARVALHO, D. A. DE. (2013). Composição florística de angiospermas no carste do Alto São Francisco, Minas Gerais, Brasil. **Rodriguésia**, 64(1), 29–36. https://doi.org/10.1590/s2175-78602013000100004

POULSON, T. L., & CULVER, D. C. (1969). Diversity in Terrestrial Cave Communities. **Ecology**, 50(1), 153–158. https://doi.org/10.2307/1934678

POULSON, T. L., & WHITE, W. B. (1969). The Cave Environment. **Science**, 165(3897), 971 981.doi:10.1126/science.165.3897.971.

POULSON, T.L., & LAVOIE, K.H. The trophic basis of subsurface ecosystems. In: Wilkens H, Culver DC, Humphreys WF (Eds). Ecosystems of the World 30. Subterranean Ecosystems. Amsterdam, **Elsevier**, 231–249. 2000.

R CORE TEAM (2022). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. **URL https://www.R-project.org/.**

RAFAEL, J. A., MELO, G. A. R. DE, CARVALHO, C. J. B. DE, CASARI, S. A., & CONSTANTINO, R. (2012). Insetos do Brasil: Diversidade e Taxonomia. **Editora Holos** (Vol. 1, p. 810).

REUBEN, R., TEWARI, S. C., HIRIYAN, J., & AKIYAMA, J. (1994). Illustrated keys to species of Culex (Culex) associated with Japanese Encephalitis in Southeast Asia (Diptera: Culicidae). **Mosquito Systematics**, 26(2), 75–96.

Ribeiro, G. C., Lamas, C. J. E., & De Azevedo, L. N. S. (2007). A catalogue of the types of Limoniidae and Tipulidae (Diptera: Tipulomorpha) in the collection of the Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo, Brazil. **Zootaxa**, (1497), 1–22. https://doi.org/10.11646/zootaxa.1497.1.1

Sarbu, S. M., Kane, T. C., & Kinkle, B. K. (1996). A chemoautotrophically based cave ecosystem. **Science**, 272(5270), 1953–1954. https://doi.org/10.1126/science.272.5270.1953

Silva, A. P. B. Enriquecimento trófico em ambientes subterrâneos e suas aplicações para a conservação da biodiversidade de invertebrados aquáticos. Unpublished M. Sc. thesis, Universidade Federal de Lavras-Lavras, 2008.

Simões, M. H., Souza-Silva, M., & Ferreira, R. L. (2012). Species richness and conservation of caves in the Urucuia river sub-basin, a tributary of the San Francisco river: a case study in caves of Arinos, Minas Gerais, Brazil. **Revista Brasileira de Espeleologia**, 2(2), 1–17. Retrieved from: http://www.biologiasubterranea.com.br/workspace/uploads/artigos/arinos.pdf

Soares, Luiz Gustavo Souto; Koken, Antonia Figueira Van De; Timo, Mariana Barbosa & Silva, Rubens Pereira. Fauna de invertebrados em cavernas de calcário na região de Córrego Fundo, Minas Gerais, Brasil. **Revista Eletrônica de Biologia**. ISSN 1983-7682. 2013.

Souza-Silva, M. Ecologia e conservação das comunidades de invertebrados cavernícolas na Mata Atlântica Brasileira. Tese de Doutorado em Ecologia Conservação e Manejo da Vida Silvestre, ICB-UFMG 224 p.2008.

Souza-Silva, M., & Ferreira, R. L. (2009). Estrutura das comunidades de invertebrados em cinco cavernas insulares e intertidais na costa brasileira. **Espeleo-Tema**, 20(1/2), 25–36. Retrieved from http://www.cavernas.org.br/espeleo-tema/espeleo-tema_v20_n1-2.pdf#page=27

Timo, M. B. Mapeamento geomorfológico da região Cárstica do Córrego do Cavalo, Piumhi (MG). Dissertação (Mestrado em Geografia) – Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais. Belo Horizonte, p. 133, 2014.

Tourinho, Ana Lúcia; Man Hung, Nancy França Lo; Salvatierra, Lidianne et,.al. Mariuá: a fora, a fauna e o homem no maior arquipélago fuvial do planeta / Organizador Marcio Luiz de Oliveira. Manaus: **Editora INPA**, 2017.

Trajano, E.; Bichuette, E. & Batalha, M.A. Estudos ambientais em cavernas: os problemas da coleta, da identificação, da inclusão e dos índices. **Espeleo-Tema**, v 23; N°: 1: 13-22. 2012. Disponível em: https://www.cavernas.org.br/espeleo-tema/v-23-n-1-2012/.

Trajano, Eleonora, Biologia subterrânea: introdução / Eleonora Trajano, Mana Elina Bichuette. - São Paulo; **Redespeleo**, 2006. ISBN 85-99244-03-5.

Valdez-Mondragón, A., Cortez-Roldán, M. R., Juárez-Sánchez, A. R., & Solís-Catalán, K. P. (2018). A new species of Loxosceles Heineken & Lowe (Araneae, Sicariidae), with updated distribution records and biogeographical comments for the species from Mexico, including a new record of *Loxosceles rufescens* (Dufour). **ZooKeys**, 2018(802), 39–66. https://doi.org/10.3897/zookeys.802.28445

Zampaulo, Robson De Almeida. Diversidade de invertebrados cavernícolas na Província Espeleológica de Arcos, Pains e Doresópolis (MG): Subsídios para determinação de áreas prioritárias para conservação / Robson de Almeida Zampaulo. – Lavras: UFLA, 2010.

CAPÍTULO 2

EXPLORANDO O COMPORTAMENTO BÁSICO DO MOSQUITO *Aedes aegypti*: IDENTIFICAÇÃO DE ISCAS ENVOLVIDAS NA ATRATIVIDADE/ REPELÊNCIA E ESTIMULAÇÃO A OVIPOSIÇÃO

Data de submissão: 07/10/2024 *Data de aceite: 01/11/2024*

Rosângela Maria Rodrigues Barbosa
Instituto Aggeu Magalhães, Fundação Oswaldo Cruz, Departamento de Entomologia
Recife - Pernambuco
http://lattes.cnpq.br/1441332436624261

Artur Felipe Santana de Oliveira
Universidade Federal Rural de Pernambuco- UFRPE
Recife - Pernambuco
http://lattes.cnpq.br/5877011777231374

Karinna Ketylim Nunes Figueredo
Instituto Aggeu Magalhães, Fundação Oswaldo Cruz, Departamento de Entomologia
Recife - Pernambuco
http://lattes.cnpq.br/9199726277435821

Amanda Carolina da Silva Benigno
Faculdade Frassinetti do Recife - FAFIRE
Recife - Pernambuco
http://lattes.cnpq.br/9606163484588479

Rafael Zamys Milet Santos
Centro Universitário UniFBV WYDEN
Recife - Pernambuco
http://lattes.cnpq.br/1358289760171767

Tainá Maria Santos da Silva
Universidade Federal de Pernambuco - UFPE
Recife – Pernambuco
http://lattes.cnpq.br/6925368936971743

Gabriel Bezerra Faierstein
Instituto Aggeu Magalhães, Fundação Oswaldo Cruz, Departamento de Entomologia
Recife - Pernambuco
http://lattes.cnpq.br/9940862928143601

RESUMO: INTRODUÇÃO: Pesquisas relacionadas ao comportamento de culicídeos vêm revelando que fatores físicos e químicos são responsáveis por desencadear escolhas nas fêmeas de mosquitos, como busca por alimentos, acasalamento e oviposição. O estudo objetiva identificar e avaliar o potencial dos extratos de manga (*Mangifera indica),* acerola (*Malpighia emarginata)* e arruda (*Ruta graveolens L.*) envolvidas na atratividade/repelência e estimulação à oviposição de *Aedes aegypti*. **MÉTODOS:** Os bioensaios foram realizados em câmara de escolha. Para a preparação dos extratos aquoso, foi utilizado 15 g de folhas ou

caules. Para cada extrato resultante foi diluída para 10%, 30 %, 50% e 100%. Trinta fêmeas grávidas de *A. aegypti* foram utilizadas/ bioensaios com 12 repetições. **RESULTADOS E DISCUSSÃO:** Os recipientes tratados com folhas de manga a 10% não houve diferença, já nas de 30%, 50% e 100%, demonstraram ação repelente (IAO= -0,66; -0,59; -0,79). Nos testes com folhas de acerola a 10%, também não houve diferença estatística. Para os testes nas concentrações de 30%, 50% e 100%, demonstraram ação repelente (IAO=-0,88; -0,75; -1). Os resultados dos testes com folhas de arruda (10%, 50% e 100%) demonstraram ação repelente (IAO= -0,36; IAO= -0,58; IAO= -0,98). No extrato de caule de arruda a 10% e 50%, não houve diferença significativa. Já a 100%, demonstraram ação repelente (IAO= -0,62). **CONCLUSÃO**: Esses resultados podem nortear novas abordagens de monitoramento e controle vetorial, e futuras produção de produtos biotecnológicos como iscas para uso em armadilhas e repelentes tópicos para uso em humanos.
PALAVRAS-CHAVE: Armadilhas; Culicideos vetores; Iscas; Vigilância de mosquitos.

EXPLORING THE BASIC BEHAVIOR OF THE *Aedes aegypti* MOSQUITO: IDENTIFICATION OF BAITS INVOLVED IN ATTRACTIVENESS/REPELLENCY AND STIMULATION OF OVIPOSITION

ABSTRACT: INTRODUCTION: Research on the behavior of culicids has revealed that physical and chemical factors are responsible for triggering choices in female mosquitoes, such as searching for food, mating and oviposition. The study aims to identify and evaluate the potential of extracts of mango (Mangifera indica), acerola (Malpighia emarginata), cashew (Anacardium occidentale) and rue (Ruta graveolens L.) involved in the attractiveness/ repellentness and stimulation of oviposition of *Aedes aegypti.* **METHODS:** The bioassays were performed in a selection chamber. For the preparation of the aqueous extracts, 15 g of leaves or stems were used. For each resulting extract, it was diluted to 10%, 30%, 50% and 100%. Thirty pregnant females of *A. aegypti* were used/bioassays with 12 replicates. **RESULTS AND DISCUSSION** There was no difference in the containers treated with mango leaves at 10%, while in the 30%, 50% and 100% concentrations, they demonstrated repellent action (IAO = -0.66; -0.59; -0.79). In the tests with acerola leaves at 10%, there was also no statistical difference. For the tests at concentrations of 30%, 50% and 100%, they demonstrated repellent action (IAO = -0.88; -0.75; -1). The results of the tests with rue leaves (10%, 50% and 100%) demonstrated repellent action (IAO = -0.36; IAO = -0.58; IAO = -0.98). In the extract of rue stem at 10% and 50%, there was no significant difference. At 100%, they demonstrated repellent action (IAO = -0.62). **CONCLUSION:** These results can guide new approaches to vector monitoring and control, and future production of biotechnological products such as baits for use in traps and topical repellents for use in humans.
KEYWORDS: Traps; Culicidae vectors; Baits; Mosquito surveillance.

INTRODUÇÃO

O controle populacional de mosquitos é uma necessidade imposta pelo seu envolvimento na transmissão de agentes patogênicos ao homem. *A. aegypti* é uma espécie urbana de difícil controle e responsável pela transmissão de arboviroses como o vírus Dengue (RUSSELL; INTAVIVAT; KANCHANAPILANT, 1969), Febre Amarela

(FREDERIKSEN, 1955), Chikungunya (SHAH et al., 1964) e Zika (DICK et al. 1952), arbovirose recentemente estabelecida no Brasil (MARCONDES; XIMENES, 2015).

O Brasil vem investindo no controle populacional de mosquitos há décadas através do Programa Nacional de Controle da Dengue (PNCD), estabelecido em 1996, onde atualmente opera em mais de 5.000 municípios brasileiros (BRASIL, 2002). No entanto, o país continua com altos índices de infestação por *A. aegypti*, sendo 2015 o ano marcado tanto pela maior epidemia da dengue já registrada, com mais de 1,6 milhão de casos notificados (LUNA et al., 2020), quanto pelo primeiro relato de transmissão autóctone do vírus Zika (ZANLUCA et al., 2015). Algumas das grandes fragilidades do PNCD envolvem a limitação da inspeção visual para levantamento de índices na vigilância das espécies de *Aedes* (CODEÇO et al., 2015), e a aplicação de inseticidas como principal método de controle, que não diminuiu a densidade populacional, resultou na resistência em populações de todo país, e trouxe riscos à saúde dos que tiveram contato constate com o produto (ZARA et al., 2016). Essas medidas se contrapõem ao sugerido pelo Global Vector Control Response 2017–2030, que sugere utilização de estratégias integradas para suprimir a população de vetores, sem permitir a seleção de resistência e não colocar em risco a preservação do meio ambiente, a saúde dos seres humanos e a dos animais (WHO, 2017).

Uma das aplicações no controle integrado é a utilização de armadilhas com objetivo de coletar mosquitos em diferentes estágios de vida. No âmbito das armadilhas de oviposição, ganha destaque a ovitrampa, tanto para o monitoramento quanto para o controle da densidade populacional de mosquitos no campo (MELO-SANTOS et al., 2017; REGIS et al., 2013).

Com a necessidade de potencializar as armadilhas, estudos sobre semioquímicos ganham destaque para formulação de iscas, pois agem como reguladoras dos principais tipos de comportamento em insetos, como busca por sítios de oviposição (LEAL et al., 2008). Foi relatado nas últimas décadas que a água onde larvas de mosquitos cresceram pode influenciar positivamente na atividade de oviposição, pois as fêmeas buscam pistas de criadouros adequados para o desenvolvimento das suas progênies, mas pouco foi relacionado se esses atrativos são derivados das larvas, das bactérias que nelas hospedam, ou mesmo das bactérias do meio de desenvolvimento (ALLAN; KLINE, 1998; SERPA; MONTEIRO; VOLTOLINI, 2008).

Dentre as formas conhecidas de controle de mosquitos, o método mecânico-comportamental destaca-se por sua eficiência, baseando-se, entre outras ações, na instalação de armadilhas para coletar mosquitos em estágios adultos e imaturos. As armadilhas podem ser associadas aos larvicidas biológicos (REGIS et al., 2013) e semioquímicos (BRAKS; LEAL; CARDÉ, 2007), cujo objetivo gira em torno de monitorar e reduzir as populações de mosquitos nas cidades. Hoje em dia, as armadilhas vêm sendo associadas a atrativos físicos e químicos, podendo ser implementadas desta forma, nos programas de monitoramento e controle vetorial (REGIS et al., 2013; BALDACCHINO

et al., 2015). Para potencializar a eficiência das armadilhas de mosquitos, iscas vêm sendo identificadas (LEAL et al., 2008; GUSMÃO et al., 2010; ARBAOUI; CHUA, 2014; FAIERSTEIN et al., 2019).

Mosquitos são insetos orientados por sinais físicos e químicos que desencadeiam escolhas como, por exemplo, busca por alimento (BERNIER et al., 2006), acasalamento (PONLAWAT; HARRINGTON, 2009) e oviposição (ABREU et al., 2015). Por isso, pesquisas relacionadas ao comportamento dos mosquitos, avaliando novos modelos de iscas associadas às armadilhas que atraiam e estimulem a oviposição, podem gerar produtos biotecnológicos de grande interesse e aplicabilidade para os programas de controle de mosquitos (DAY, 2016). O estudo objetivou identificar e avaliar o potencial dos extratos de manga (*Mangifera indica),* acerola (*Malpighia emarginata)*, caju (*Anacardium occidentale*) e arruda (*Ruta graveolens L.*) envolvidas na atratividade/repelência e estimulação à oviposição de *Aedes aegypti*.

MÉTODOS

Os bioensaios foram realizados no Laboratório de Comportamento de Culicídeos Vetores, departamento de Entomologia do Instituto Aggeu Magalhães/FIOCRUZ-PE (IAM_FIOCRUZ-PE), Campus da Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Brasil.

Mosquitos. A colônia de *A. aegypti* (RecL) teve início em 1996, a partir de ovos coletados em bairros do Recife (ARAÚJO et al., 2019). A colônia é mantida em Recife a 26 ± 2 °C, 65–85% de umidade relativa e sob um período de foto de 12:12 h (claro: escuro). As larvas são mantidas em recipientes plásticos (30×15 cm; 10 cm de altura) com densidade de aproximadamente 0,5 larvas/mL. Após a emergência, os mosquitos são transferidos para uma gaiola de contenção (30 x 22 x 20 cm), com alimento disponível ad libitum em bolas de algodão, uma embebida em água e a outra em solução de sacarose a 10%. Os mosquitos são agrupados em aproximadamente 800 indivíduos, entre machos e fêmeas (1:1), e entre o sétimo e o décimo dia após a emergência, é oferecido um repasto sanguíneo artificial com 20 mL de sangue desfibrinado do coelho *Oryctolagus cuniculus*, Lineu (1758) (FAIERSTEIN et al., 2019).

Extratos. Três tipos de material orgânico foram utilizados: folhas jovens e ou caule das plantas como manga (*Mangifera indica),* acerola (*Malpighia emarginata)* e arruda (*Ruta graveolens L.*).

Extrato aquoso: os extratos foram preparadas individualmente, utilizando 30 g de material cortado desidratado (24h a 100ºC), colocadas em frascos de âmbar contendo 2L de água destilada por sete dias em condições anaeróbicas (SANTOS et al., 2010).

Bioensaios de oviposição

Os bioensaios foram realizados em Câmara de escolha, em gaiolas apropriadas para contenção de mosquitos (50 x 40 x 32 cm). Foram introduzidas vinte fêmeas grávidas

de *A. aegypti* previamente alimentadas nas gaiolas para avaliar o comportamento de oviposição. Foram inseridos em cada recipiente papel de filtro como substrato de oviposição. As avaliações foram repetidas 12 vezes. Em cada repetição, um novo grupo de fêmeas grávidas eram inseridas e as posições dos recipientes de postura foram trocadas. O comportamento de oviposição foi avaliado em recipientes pareados, um com extratos botânicos nas concentrações de 10%, 50% e 100% *versus* controle (apenas água destilada).

*Análise Estatística***.** A atividade de oviposição nos recipientes foi determinada através do Índice de Atividade de Oviposição (IAO), calculado pela fórmula: IAO = (NtNc)/(Nt+Nc), em que Nt = média de ovos depositados no recipiente tratamento e Nc = média de ovos depositados no recipiente controle. Os valores de IAO variam de +1 (atração/estimulação) a -1 (repulsão/inibição) (GOMES, 1998). Para comparar o desempenho das infusões na coleta de ovos, utilizamos o teste de Wilcoxon com p<0,05 quando significativo.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

Bioensaios com extrato de folhas de manga (*Mangifera indica* L.): Um total de 28.740 ovos foram depositados nos bioensaios com a Infusão das folhas de manga. Na concentração 10% (9.925 ovos – 34, 53%) não houve diferença significativa comparado com controle (11.861 ovos – 41,27%). Para os testes nas concentrações de 30%, 50% e 100% os resultados demonstraram uma ação repelente comparado com o controle (p <0,0005). Na 30% obtiveram um total de 2.469 ovos (8,59 %- IAO= -0,66), na 50 % um total de 3.081 ovos ovipositatos (10,72 % - IAO= -0,59), na de 100%, um total de 1.404 ovos foram depositados (4,89 % -IAO= -0,75) (Figura 1).

Bioensaios com extrato de folhas de acerola (*Malpighia emarginata* DC.): Os bioensaios com a infusão das folhas de acerola obtiveram um total de 11.300 ovos depositados nos recipientes. Na concentração de 10 % (4.780 ovos – 42,3 %) não houve diferença significativa comparado com controle (5.390 ovos – 47,70). Para os testes nas concentrações de 30%, 50% e 100% os resultados demonstraram uma ação repelente comparado com o controle (p <0,0005). Na 30% obtiveram um total de 349 ovos (8,59 %- IAO= -0,88), na 50 % um total de 771 ovos ovipositatos (6,82 % - IAO= -0,75), na de 100%, um total de 10 ovos foram depositados (0,09 % - IAO= -1) (Figura 2).

Bioensaios com extrato de folhas de *arruda (Ruta graveolens):* Os resultados dos testes com extrato de folhas de *arruda* (10%, 50% e 100%) demonstraram que um número maior de fêmeas preferiu ovipositar mais no recipiente controle (p=0,001; p<0,0001; p<0,0001), sinalizando desta forma uma ação repelente. Na concentração de 10% de um total de 13.362 ovos depositados, o recipiente controle (9.084 ovos - 67,9 %) coletou significativamente mais ovos em relação ao recipiente teste (4.278 - 32,1 %), com IAO de -0,36. Na concentração de 50%, um total de 15.230 ovos depositados, o recipiente controle (12.059 ovos - 79,2 %) coletou mais ovos em relação ao teste (3.171 ovos - 20,8 %), com

um IAO de -0,58. Na concentração de 100% de um total de 12.182 ovos depositados no controle (12.067 ovos – 99%) coletou significativamente mais ovos em relação ao recipiente teste (115 ovos – 1%), com um IAO de -0,98 (Figura 3).

Bioensaios com extrato de caule de *arruda (Ruta graveolens):* No extrato de caule de arruda *(Ruta graveolens)* nas 10% e 50%, não houve diferença significativa. Já a 100%, demonstraram ação repelente (p<000,1). Na concentração de 10% de um total de 8.329 ovos depositados, 51 % foram no recipiente controle (4.262 ovos) e 49% no recipiente teste (4.067 ovos). Na concentração de 50% de um total de 12.797 ovos depositados, 51% foram no recipiente controle (6.486ovos) e 49% no recipiente teste (6.311 ovos). Na concentração de 100% de um total de 16.014 ovos depositados, no recipiente controle (12.935 ovos) coletou significativamente mais ovos em relação ao recipiente teste (3.079 ovos), com IAO de -0,62 (Figura 4).

Os sinais químicos envolvidos no comportamento de escolha por sítios de oviposição podem atuar como atraentes ou estimulantes, bem como inibidores ou repelentes. Os atraentes de oviposição são responsáveis por induzir os insetos a se locomoverem grandes distâncias em direção à fonte de odor enquanto os estimulantes desencadeiam o comportamento de oviposição após as fêmeas já terem localizado o criadouro, sendo a ação normalmente induzida por contato. Os repelentes de oviposição podem atuar a longa distância, fazendo com que os insetos se desloquem para longe da fonte de estímulo, desencadeando um comportamento de evitar o criadouro. Os inibidores, no entanto, evocam resposta após o contato do inseto com o estímulo. (ISOE; MILLAR 1995, ISOE et al. 1995).

Para a escolha de um lugar para ovipor, as fêmeas gravidas de *Aedes aegypti* usam suas sensilas, localizadas em suas antenas, palpos e aparelhos de oviposição, para avaliar se o local é favorável para deposição de seus ovos. São as sensilas que enviam sinais nervosos até o nervo central para a identificação e processamento das informações (CLEMENTS, 1999). Essa escolha é mediada de alguns fatores, que são químicos e físicos, como por exemplo a cor, a temperatura, a densidade óptica e o PH da água, e a textura, tamanho e umidade do substrato de oviposição (MCCALL; CAMERON 1995), caso esses parâmetros não estejam de acordo com os seus parâmetros, elas buscam outros sítios de oviposição.

Os resultados corroboram com outros estudos, que sugerem que as infusões liberaram alguns produtos químicos voláteis que atuam como pistas químicas para as fêmeas grávidas e ajudam na seleção dos locais de oviposição. Os produtos metabólicos formados pela decomposição microbiana da matéria orgânica presente na água atraem, comunicando-se às fêmeas com referência à adequação do local e da disponibilidade de alimentos para sua próxima progênie e as concentrações desses voláteis podem interferir na aceitação ou repelência daquele sítio de oviposição (SANTANA et al., 2006; PONNUSAMY et al., 2010). Um estudo realizado na India apontou que as folhas de bambu, assim como as

folhas de capim, são infusões atrativas para *A. aegypti* (GOPALAKRISHNAN, et. al., 2012).

CONCLUSÕES

A identificação das substâncias químicas envolvidas na atratividade e estimulação à oviposição, e ou repelência, resultará na produção de novos produtos biotecnológicos. No entanto, são necessários estudos adicionais para otimizar as formulações e avaliar sua eficácia em condições de campo, levando em conta fatores como toxicidade, persistência e interações ambientais. Tais esforços contínuos são cruciais para traduzir essas descobertas em soluções práticas para a prevenção de doenças transmitidas por mosquitos.

REFERÊNCIAS

ALLAN, S.A.; KLINE, D.L. Larval Rearing Water and Preexisting Eggs Influence Oviposition by *Aedes aegypti* and Ae. *albopictus* (Diptera: Culicidae). **Journal of Medical Entomology**, 35 (6): 943–947, 1998.

ABREU, F.V.S.; MORAIS, M.M.; RIBEIRO, S.P.; EIRAS, Á.E. Influence of breeding site availability on the oviposition behaviour of *Aedes aegypti*. **Mem Inst Oswaldo Cruz,** 110 (5): 669–76, 2015.

-ARAÚJO, A.P.; PAIVA M.H.S.; CABRAL A.M.; CAVALCANTI, A.E.H.D.; PESSOA L.F.F.; DINIZ, D.F.A.; HELVECIO, E.; SILVA, E.V.G.; SILVA, N.M.; ANASTÁCIO, DB, PONTES C, NUNES V, SOUZA MFM, MAGALHÃES FJR, MELO SANTOS M.A.V.; AYRES, C.F.J. Screening *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) Populations from Pernambuco, Brazil for Resistance to Temephos, Diflubenzuron, and Cypermethrin and Characterization of Potential Resistance Mechanisms. **J Insect Sci** 19: 12, 2019.

ARBAOUI, A.A.; CHUA, T.H. Bacteria as a source of oviposition attractant for *Aedes aegypti* mosquitoes. **Tropical Biomedicine**, 31 (1): 134–142, 2014.

BARBOSA, R. M. R. et al. Laboratory and field evaluation of an oviposition trap for *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae). **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 102, n. 4, p. 523–9, 2007.

BARBOSA, R.M.R.; REGIS, L.N. Monitoring temporal fluctuations of Culex quinquefasciatus using oviposition traps containing attractant and larvicide in an urban environment in Recife, Brazil. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, Vol. 106(4): 451-455, 2011

BARRETO, M.L.; TEIXEIRA, M.G.; BASTOS, F.I.; XIMENES, R.A.; BARATA, R.B.; RODRIGUES, L.C. Successes and failures in the control of infectious diseases in Brazil: Social and environmental context, policies, interventions, and research needs. **The Lancet**, v. 377, n. 9780, p. 1877–1889, 2011.

BALDACCHINO, F.; CAPUTO, B.; CHANDRE, F.; DRAGO, A.; DELLA TORRE, A.; MONTARSI, F.; RIZZOLI, A. Control methods against invasive *Aedes* mosquitoes in Europe: A review. **Pest Management Science**, 71 (11): 1471–1485, 2015.

BERNIER, U.R.; KLINE, D.L.; POSEY, K.H. Human Emanations and Related Natural Compounds That Inhibit Mosquito Host-Finding Abilities. In: DEBBOUN, M.; FRANCES, S. P.; STRICKMAN, D. (Eds.). **Insect Repellents: Principles, Methods, and Uses**. 1. ed. Boca Raton: CRC Press, 2006. p. 495.

BRAKS, M.A.H.; LEAL, W. S.; CARDÉ, R.T. Oviposition Responses of Gravid Female *Culex quinquefasciatus* to Egg Rafts and Low Doses of Oviposition Pheromone Under Semifield Conditions. **Journal of Chemical Ecology**, 33 (3): 567–578, 2007.

BRASIL, Ministério da Saúde. **Programa Nacional de Controle da Dengue**. 2002. Disponível em: < http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/pncd_2002.pdf> Acesso em: 25 agosto. 2024

CLEMENTS, A.N. **Biology of Mosquitoes.** Sensory Reception and Behaviour. 1. ed. Wallingford: The Centre for Agriculture and Bioscience International, 1999.

CLEMENTS, A.N. **Biology of Mosquitoes.** Transmission of Viruses and Interactions with Bacteria. 1. ed. Wallingford: The Centre for Agriculture and Bioscience International, 2011.

CODEÇO, C.T.; LIMA, A.W.S.; ARAÚJO, S.C.; LIMA, J.B.P.; MACIEL-DE-FREITAS, R., et al. Surveillance of *Aedes aegypti*: Comparison of House Index with Four Alternative Traps. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, San Francisco, 9 (2): e0003475, 2015.

CONSOLI, R.A.G.B.; LOURENÇO-DE-OLIVEIRA, R. **Principais mosquitos de** importância sanitária no Brasil. 1. ed. Rio de Janeiro: Ed. Fiocruz, 1994.

DAY, J.F. Mosquito oviposition behavior and vector control. **Insects**, 7 (4): 1–22, 2016.

FAIERSTEIN, G.B; LU, W.; SENA, A.K.L.S.; BARBOSA, R.M.R.; LEAL, W.S. Conspecific and allospecific larval extracts entice mosquitoes to lay eggs and may be used in attract-and-kill control strategy. **Sci Rep** 9: 13747, 2019.

GOPALAKRISHNAN, R.; DAS, M.; BARUAH, I.; VEER, V.; DUTTA, P. Studies on the ovitraps baited with hay and leaf infusions for the surveillance of dengue vector, *Aedes albopictus* in northeastern India. **Tropical Biomedicine***,* 29(4): 598–604, 2012.

GUSMÃO, D.S.; SANTOS, A.V.; MARINI, D.C.; BACCI, M.; BERBERT-MOLINA, M.A.; LEMOS, F.J.A. Culture-dependent and culture-independent characterization of microorganisms associated with *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) (L.) and dynamics of bacterial colonization in the midgut. **Acta Tropica**, 115 (3): 275–281, 2010.

KRAEMER, M.U.G.; SINKA, M.E.; DUDA, K.A.; MYLNE, A.Q.N.; SHEARER, F. M.; BARKER, C.M.; MOORE, C.G.; CARVALHO, R.G.; COELHO, G.E.; VAN BORTEL, W.; HENDRICKX, G.; SCHAFFNER, F.; ELYAZAR, I.R.; TENG, H. .; BRADY, O. J.; MESSINA, J.P.; PIGOTT, D.M.; SCOTT, T.W.; SMITH, D.L.; WILLIAM WINT, G.R.; GOLDING, N.; HAY, S.I. The global distribution of the arbovirus vectors *Aedes aegypti* and *Ae. Albopictus*. **eLife**, v. 4, n. JUNE2015, p. 1–18, 2015.

ISOE J.; MILLAR, J.G. Characterization of factors mediating oviposition site choice by *Culex tarsalis*. J **Am Mosq Control Assoc** 11: 21-28, 1995.

LEAL, W.S.; BARBOSA, R.M.R.; XU, W.; ISHIDA, Y.; SYED, Z.; LATTE, N.; CHEN, A.M.; MORGAN, T.I.; CORNEL, A.J.; FURTADO, A. Reverse and Conventional Chemical Ecology Approaches for the Development of Oviposition Attractants for *Culex* Mosquitoes. **PLoS ONE**, 3(8): e3045, 2008.

LUNA, E.J.A. et al. A cohort study to assess the incidence of dengue, Brazil, 2014–2018. **Acta Tropica**, Basel, 204: 105313, 2020.

MARCONDES, C.B; XIMENES, M.F.F.M. Zika virus in Brazil and the danger of infestation by *Aedes* (Stegomyia) mosquitões. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**. 49 (1):4-10, 2016.

MCCALL, P.J.; CAMERON, M.M. Oviposition pheromones in insect vectors. **Parasitology Today** 11: 352–5, 1995.

MELO-SANTOS, M.A.V. et al. Integrated technologies for biological, mechanical and genetic control of *Aedes aegypti*. **Revista brasileira de Ciências da Saúde**, 28 (1): 58–63, 2017.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. **Mosquito (vector) control emergency response and preparedness for Zika virus**. Disponível em: <http://www.who.int/neglected_diseases/news/mosquito_vector_control_response/en/>. Acesso em: 7 dez. 2016.

PONLAWAT, A.; HARRINGTON, L.C. Factors associated with male mating success of the dengue vector mosquito, *Aedes aegypti*. **The American journal of tropical medicine and hygiene**, 80 (3): 395–400, 2009.

PONNUSAMY, L.; XU, N.; BÖRÖCZKY, K.; WESSON, D.M.; AYYASH, L.A.; SCHAL, C.; APPERSON, C.S. Oviposition responses of the mosquitoes *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* to experimental plant infusions in laboratory bioassays. **Journal of Chemical Ecology,** 36: 709-19, 2010.

REGIS, L.N.; ACIOLI, R.V.; SILVEIRA, J.C.; MELO-SANTOS, M.A.V.; SOUZA, W.V.; RIBEIRO, C.M.N.; DA SILVA, J.C.S.; MONTEIRO, A.M.V.; OLIVEIRA, C.M.F.; BARBOSA, R.M.R.; BRAGA, C.; RODRIGUES, M.A.B.; SILVA, M.G. N. M.; RIBEIRO, P. J.; BONAT, W.H.; DE CASTRO MEDEIROS, L.C.; CARVALHO, M.S.; FURTADO, A.F. Sustained reduction of the dengue vector population resulting from an integrated control strategy applied in two Brazilian cities. **PloS one**, 8(7): e67682, 2013.

SANTANA, A.L.; ROQUE, R.A.; EIRAS, A.E. Characteristics of grass infusions as oviposition attractants to *Aedes* (*Stegomyia*) (Diptera: Culicidae). **Journal of Medical Entomology**, 43: 214-220, 2006.

SANTOS, E.; CORREIA, J.; MUNIZ, L.; MEIADO, M.; ALBUQUERQUE, C. Oviposition Activity of *Aedes aegypti* L. (Diptera: Culicidae) in Response to Different Organic Infusions. **Neotropical Entomology**, 39 (2): 299–302, 2010.

SERPA, L.L.N.; MONTEIRO, S.D.B.; VOLTOLINI, J.C. Effect of larval rearing water on *Aedes aegypti* oviposition in the laboratory. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Brasília, 41 (5): 515–517, 2008.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Global vector control response 2017–2030**. Geneva. License: CC BY-NC-AS 3.0 IGO, 2017.

ZANLUCA, C. et al. First report of autochthonous transmission of Zika virus in Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, 110 (4): 569–572, 2015.

ZARA, L. DE S. A. et al. Estratégias de controle do *Aedes aegypti*: uma revisão. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, Brasília, 25 (2): 1–2, 2016.

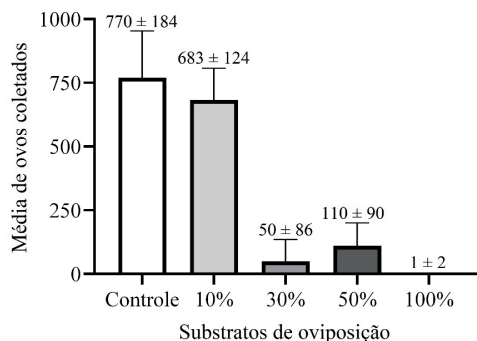



Figura 1: Número médio de ovos ovipositados ao término de 12 repetições avaliando os extratos de folhas de manga (*Mangifera indica* L.) nas concentrações (10%, 30%, 50% e 100%) em relação a oviposição de *Aedes aegypti*, pareado com um controle de água destilada, em laboratório.

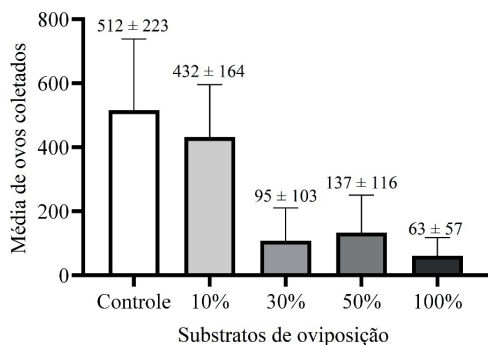



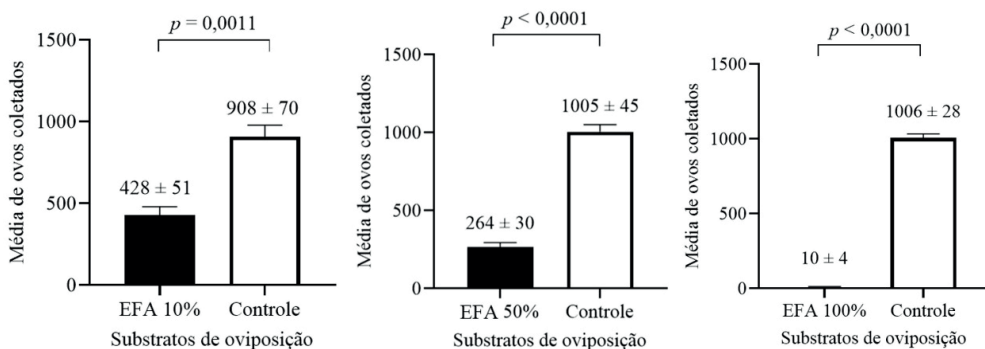
Figura 2: Número médio de ovos ovipositados ao término de 12 repetições avaliando os extratos de folhas de acerola (*Malpighia emarginata* DC.) nas concentrações (10%, 30%, 50% e 100%) em relação a oviposição de *Aedes aegypti*, pareado com um controle de água destilada, em laboratório.

*EFA – extrato de folha aquoso

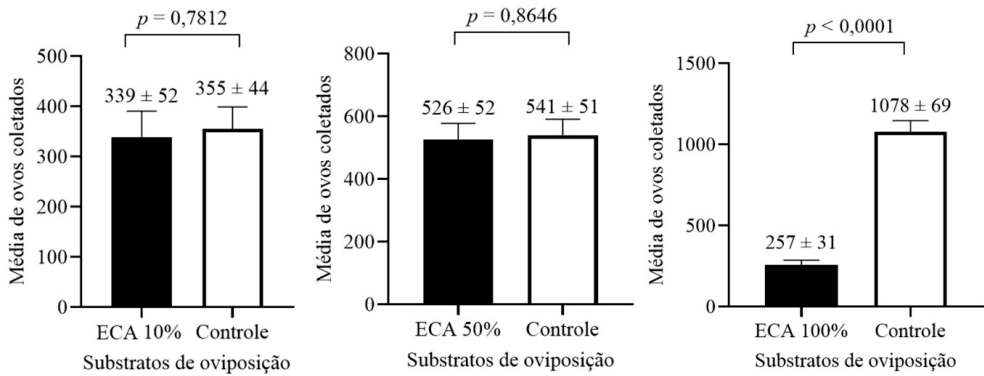
Figura 3: Número de ovos ovipositados ao término de 12 repetições avaliando os extratos de folhas de *arruda (Ruta graveolens)* nas concentrações (10%, 50% e 100%) em relação a oviposição de *Aedes aegypti*, pareado com um controle de água destilada, em laboratório.

*ECA-extrato de caule aquoso

Figura 4: Número de ovos ovipositados ao término de 12 repetições avaliando os extratos de caule de *arruda (Ruta graveolens)* nas concentrações (10%, 50% e 100%) em relação a oviposição de *Aedes aegypti*, pareado com um controle de água destilada, em laboratório.

CAPÍTULO 3

VOCAL EVIDENCE OF NAVARINO TAPACULO (*SCYTALOPUS ANTARCTICUM* OF THE GENUS *SCYTALOPUS*) IN NAVARINO ISLAND. CHILE

Data de submissão: 01/10/2024 *Data de aceite: 01/11/2024*

Alejandro Correa Rueda
Evolutionary Biologist. Cape Horn International Center (CHIC).
Omora Ethnobotanical Park, Isla Navarino Island, Chile.
Santiago, Chile.
http://orcid.org/0000-0003-2067-4611

ABSTRACT: Here we discuss the acoustic signals of enigmatic specie of genus *Scyatalopus*: *Scytalopus antarcticum* (Navarino Tapaculo) (Aves: Passeriformes: Rhinocryptidae) from the *Nothofagus* relict subantarctic rainforest of Isla Navarino, Cape Horn, Chile. The vocalization of this species were compared with *Scytalopus magellanicus.* Navarino Tapaculo has a unique call that differs dramatically in voice from Andean Tapaculo in Chile, making it clear that is a separate species. The voice of Navarino Tapaculo, consisting of a series of high-intensity, rapidly repeating notes. Phenotypically, the new *Scytalopus* species is uniformly blackish, somewhat more clearly in color and small to medium in size, very similar to members of the Andean Tapaculo in which they are sympatric species in Navarino Island. However, the phenotypic differences in plumage between juvenile Andean Tapaculo and Navarino Tapaculo are notable. This is the first report of spectrogram analysis based on voices of territorial call of this specie recorded in 2002, concluding that these are different species.
KEYWORDS: *Scytalopus*, Navarino Tapaculo, Andean Tapaculo, Spectrogram, vocalization, Bioacoustics, Endangered species, Sympatric speciation, Subantarctic relict forests, Navarino Islands, Cape Horn, Chile.

EVIDENCIA DE LA VOCALIZACIÓN DEL CHURRÍN DE NAVARINO (*SCYTALOPUS ANTARCTICUM* DEL GENERO *SCYTALOPUS*) EN ISLA NAVARINO, CHILE.

RESUMEN: Describimos las señales acústicas de la enigmática especie del genero *Scytalopus*: *Scytalopus antarcticum* (Churrín de Navarino) (Aves: Passeriformes: Rhinocryptidae) de los bosques relictos de *Nothofagus* de Isla Navarino, Cabo de hornos, Región Subantártica, Chile. La vocalización de *S. antarcticum*, fue comparada con el llamado de *S. magellanicus*. El Churrín de Navarino tiene una llamada única que difiere dramáticamente de la vocalización del

Churrín Andino en Chile, lo que deja claro que es una especie aparte. La vocalización consiste en una serie de notas de alta intensidad que se repiten sucesivamente. Fenotípicamente, la nueva especie de *Scytalopus* es de color uniformemente negruzco algo más claro y de tamaño pequeño a mediano, muy similar a los miembros de la población de Churrín Andino del sur de Chile y en que probablemente estas dos especies de *Scytalopus* sean simpátricas. No obstante, las diferencias fenotípicas del plumaje entre los juveniles de Churrín Andino del sur de Chile y Churrín de Navarino son notables. En este trabajo realizamos un análisis de espectrogramas basado en el llamado territorial de esta especie, registrado el año 2002, concluyendo que se tratan de especies diferentes.
PALABRAS CLAVE: *Scytalopus,* Churrín de Navarino, Churrín Andino, Espectrograma, vocalización, Bioacústica, Rinocríptidos, Especie en peligro, Especiación simpátrica, Bosques relictos subantárticos, Islas Navarino, Cabo de Hornos, Chile.

The genus *Scytalopus* is represented in Chile by two species *S. magellanicus* (Andean Tapaculo) and *S. fuscus* (Dusky Tapaculo), located within the Southern Andes clade, which includes species from Tierra del Fuego to southern Colombia (Krabbe *et al*, 2020). However, there is a third species not classified by these authors, *S. antarcticum* (Navarino Tapaculo) (Fig. 1 and Fig. 2) described by Correa in 2022 and not yet recorded in the SACC (Krabbe & Schulenberg, 1997), since at that time it was an unknown species.

Species of the genus *Scytalopus*, as well as other taxa of the family Rhinocriptidae, have vocalizations of a wide variety of frequencies and intensities that are quite conspicuous (Krabbe *et al*., 1997; Coopmans *et al*., 2001). The morphological differences of the adult specimens of the Navarino Tapaculo are very similar to those of the members of Andean Tapaculo of southern Chile and Argentina. Both are uniformly blackish in color, although the Navarino Tapaculo is somewhat lighter in color and small in size, 10 to 11 cm in length. However, the phenotypic differences in plumage between juvenile Tapaculo Navarino (Fig. 2) and Andean Tapaculo are notable (Correa 2012; Correa, 2022).

S. magellanicus shows sympatry with *S. fuscus* at other localities in Chile (Correa *et al*., 2020; Norambuena *et al*., 2011). However sympatry of these two species *S. magellanicus* an *S. antarcticum* has been observed at Isla Navarino (Unpublished field notes). Such behaviour is to be expected in *S. magellanicus* as, is a habitat generalist (Correa & Rozzi, 2003).

Species of birds of the Rhinocryptidae family are terrestrial and have little capacity for flight (Rozzi *et al*.,1996). Nevertheless, the existence of Rhinocryptidae taxa in the remote islands of Chiloé supports the proposition of terrestrial connections during the glacial period (Villagrán et al., 1997). This biogeographic event allowed the emigration of a great diversity of biota from the south of the South American continent to the north during the Miocene (Cione *at al*., 2015). The relict forests, a refuge for South American *Nothofagus*, have been associated with mixed floras since the Miocene (Troncoso, 1991) and other important forest species from southern Chile of extraordinary biogeographic interest (Villagrán, 1991;

Villagrán *et al.*, 1997; Schmthüssen, 1956). Similarities in floristic patterns are repeated in the neotropical forests of southern Brazil and the eastern Andes of Bolivia and Argentina (Villagrán *et al.*, 2004), as well as in bird taxa of the family Rhinocrytididae, such as those of the genus *Scytalopus* and *Rhinocrypta* (Vielliard, 1990). In addition, other authors show that evolutionary diversification in *Scytalopus* was remarkably rapid, with speciation rates during the Late Miocene and Pliocene (Krabbe *et al.*, 2020). Probably the origin of the dispersal of the birds of the genus *Scytalopus*, i.e., the tropical Andes clade, the Brazilian clade and the Southern Andes clades, as well as those found from Tierra del Fuego to southern Colombia (Krabbe *et al.*, 2020), originated in the relict *Nothofagus* forests of southern South America, from where they dispersed to the neotropical forests of Brazil (Unpublished manuscript). Similarly, a great diversity of endemic bird taxa has dispersed from this great refuge of relict forests in southern Chile to the rest of South America. An example of these is the migratory passerine bird species that travels long distances to breeding Elaenia albiceps, from Brazil to Chile to breeds (Jiménez *et al.*, 2016).

This brief scientific note aims to describe for the first time the territorial vocalization of the Navarino Tapaculo, by means of spectrograms and to make a comparison of the vocalizations with the Andean Tapaculo. In addition is intended to verify whether it is a distinct species of *Scytalopus*.

The sampling area, where acoustic signals (Aleixo & Vielliard, 1995) of the Navarino Tapaculo and Andean Tapaculo were recorded, was conducted after the breeding season, in Omora Park, Puerto Williams, Navarino Island (54° 56′ S; 67° 36′ W), Sub-Antarctic region of Chile (Correa, 2021 and 2022) (Fig. 3). The flora of the site is composed of Sub-Antarctic Andean-Patagonian humid relict *Nothofagus* forests of Ñirre (*N. antarctica*), Lenga (*N. pumilo*) and other tree species, in interaction with a rich mixed flora. These ecosystems associated with watercourses are closely related to relict forests in other latitudes of South America (Villagrán *et al.*, 2004). To obtain the vocalization records of the Navarino Tapaculo and the Andean Tapaculo, was used a SONY MD Walkman MZ-R recorder (900/sec) and with a high fidelity multidirectional microphone with a sensitivity of: -53.5 dBV/Pa or 2.10 mV/Pa (1 Pa = 94 dB SPL), with parabolic display to obtain a better reception surface of the songs. Vocalization recorded *in situ* of *Scytalopus antarcticum* in Navarino Island the year 2002 (voice can be found and heard in *in* Sound Cloud, Via streaming, Correa, 2024). The territorial voice of the Andean Tapaculo were used from the Xeno Canto database (Code XC50070), in order to subsequently make the respective sonograms of these enigmatic species of the genus *Scytalopus.* To obtain the spectrograms corresponding to the vocalizations of the Navarino Tapaculo and AndeanTapaculo, (we used Raven program the Cornell Lab 2019; Audacity software 3.6, 2024; The Spek Acoustic Spectrum Analyzer, Kojevnikov, 2024). The spectrograms were then analysed and interpreted. The nominated species *S.antarcticum* (n=12, Navarino Island) has a 2-note voice call. The fundamental “A” note of 4.1 KHz and the overtones are clearly audible (Fig 4). Note “B”, the second

overtone is higher pitched at 4.7 KHz and has a high intensity (Fig. 5). The frequency of the "A" and "B" notes of the territorial call varies between 4.0 KHz to 3.57 KHz, each note is shortened and the rhythm increases throughout the phrase, which lasts 7.2 seconds in duration and repeats with a 3-second interval. According to the graph (Fig. 5) the frequency analysis of the phrase is 11.67 KHz with an intensity of -40.8 dB. However, the species *S. magellanicus* (n=20, Isla Navarino, Correa 2021) and records reviewed from Xeno Canto (Cod. XC50070), consists of a territorial vocalization composed of 2 notes (Fig 6), "A" and "B", the fundamental "A" note being higher pitched between 1 to 2.1 KHz (Fig. 7). These two types of notes are emitted at intervals that vary between 0.19-0.32 seconds (Riveros *et al*., 1994). The phrase has a duration of 9.0 seconds and is repeated with an interval of 5 seconds. According to the graph (Fig. 7) the frequency analysis of the phrase is 15.5 KHz with an intensity of - 70 dB. According to the spectrograms, the sound structure of both species differs notably. The Tapaculo Navarino presents a rapid rise in pitch of greater intensity on the note "B" permanently and constantly until the end and lacks the drop in pitch at the end of the note, unlike the Andean Tapaculo. The call of the Andean Tapaculo has a longer duration and frequency than the call of the Navarino Tapaculo. In addition, the call of the Navarino Tapaculo has a greater intensity in its highest note. This indicates that the call characteristics of these taxa are not similar.

Unfortunately, the Navarino Tapaculo and the Andean Tapaculo have not been observed again on Navarino Island (Correa, 2021). This is due to local extinction caused by the American mink (Rozzi *et al*., 2014) and the destruction of large areas of relict Sub-Antarctic forest of *Nothofagus* by the American beaver (Oltremari *et al*., 2008). According to field data from other authors, a vocalization of the Andean Tapaculo was recorded voice on Cape Horn Island in 2024 (XC895195), but this is only anecdotal.

In conclusion, the territorial call of the Navarino Tapaculo has a unique sound structure, with higher-pitched calls that differ significantly from those of the Andean Tapaculo, as observed in the spectrograms and graphs. This suggests that the Navarino Tapaculo may be a new species of *Scytalopus* that should be nominated. However, there is a possibility that sympatric populations of *S. magellanicus* and *S. antarcticum* still coexist and share the same habitat on relict forest of *Nothofagus* in Isla Navarino and in the remote archipelago of Cape Horn, Chile.

ACKNOWLEDGMENTS

I would like to express my gratitude to Nolberto González for providing the support material and the recording and sound equipment. Special thanks to the two anonymous reviewers for their valuable suggestions. I am also grateful to Omora Ethnobotanical Park for their logistical support and for hosting me in Puerto Navarino over several years.

REFERENCES

Aleixo, A & JME., Vielliard. 1995. Composição e Dinâmica da Avifauna da Mata de Santa Genebra, Campinas, São Paulo, Brasil. Revista Brasileira de Zoologia. 12(3):493-511.

Center for Conservation Bioacoustics. 2019. Raven Pro: Interactive sound analysis software (versión 1.6.1) [programa de computador]. The Cornell Lab of Ornithology. Ithaca, NY. http://ravensoundsoftware.com.

Cione, A., Gasparini., G, Soibelzon, E., Soibelzon, L. 2015. The Great American Biotic Interchange: A South American Perspective Publisher: Springer Briefs in Earth System Sciences, Springer Verlag. ISBN 13: 9789401797917

Coopmans, P.,Krabbe, N. & TS., Schulenberg. 2001. Vocal evidence of species rank for nominate Unicolored Tapaculo *Scytalopus unicolor*. Bulletin of The British Ornithologists' Club. 121:208-213.

Correa, A. & Rozzi, R. 2003. *Scytalopus magellanicus* un generalista en el extremo sur del mundo. VII Neotropical Ornithological Congress. Program and Books Abstract. Pp. 168. Termas de Puyehue, Chile: Neotropical Ornithological Society & UNORCH.

Correa, A. 2012. Divergència en el plomatge juvenil del "Churrín" (*Scytalopus magellanicus*, Gmelin) d'isla Navarino, Xile. Butlletí de la Institució Catalana D'História Natural. Barcelona. España. Vol 77: 165-168.

Correa, A., Figueroa., J & R. Rozzi.2020. Primer registro de simpatría en dos especies de *Scytalopus* (Fam. Rhinocryptidae) en Zapallar,Región de Valparaíso Revista Catalana d'Ornitologia 36:79-82. DOI: 10.2436/20.8100.01.25

Correa, A. 2021. Observações do Churrín Magalânica (*Scytalopus magellanicus*, Fam. Rhinocryptidae) no extremo sul do mundo, Cabo de Hornos, Chile. Zoologia e Meio Ambiente. Copyright ©Atena Editora. ISBN 978- 65-5706-755-0. doi 10.22533/at.ed.550210902. Ponta Grossa, Paraná, Brasil. Capitulo 5: 56-65.

Correa, A. 2022. A new species of Tapaculo (Rhinocryptidae: *Scytalopus*) from the southern end of the world. Navarino Island, Chile. In book: Produção científica em Ciências Biológicas 2. Chapter 7. doi: 10.22533/at.ed.72222220616.

Correa, A. 2024. Voice of *Scytalopus antarcticum*. Territorial call. In Sound Cloud. Vía streaming. Founders A. Ljung y E. Wahlforss. Soundcloud global limited & Co. kg. origin Germany. headquarters Berlin Germany. F. 2007. https://soundcloud.com/search?q=Scytalopus%20antarcticum

Lopez, B. 2002. *S. magellanicus*. código: XC50070. Naturalis biodiversity center. Xeno canto Foundation website©2005-2024. http://www.xeno- canto.org/536273

Oltremari., J, Baldani, A & M. Ramirez. 2008. Impacto del castor (*Castor canadensis*, Rodentia) en bosques de lenga (*Nothofagus pumilio*) de Tierra del Fuego, Chile. Bosque. Vol. 29, N°2. Chile.

Jimenez, J., Jahn, A., Rozzi., R & N. Seavy. 2016. First documented migration of individual white-crested Elaenias (*Elaenia albiceps chilensis*) in South merica. The Wilson Journal of Ornithology ,128(2):419–425.

Kojevnikov, A. 2024. Acoustic spectrum analyser. Spek 0.8.5. https://www.spek.cc/about

Krabbe, N. & TS., Schulenberg.1997. Species limits and natural history of *Scytalopus* Tapaculos (Rhinocryptidae), with descriptions of the Ecuadorian taxa, including three new species. Studies in Neotropical Ornithology honoring Ted Parker. Ornithological Monographs. Vol. 48:46-88.

Krabbe, N.K., Schulenberg, T., Hosner, P.A., Rosenberg , K.V., Davis, T.J., Rosenberg, G.H., Lane, D.F., Andersen, M.J., Robbins, M.B., Cadena, C.D., Valqui, T., Salter, J.F., Spencer, A.J., Angulo, F. & Fjeldså, J. 2020. Untangling cryptic diversity in the High Andes: Revision of the *Scytalopus* [*magellanicus*] complex (Rhinocryptidae) in Peru reveals three new species. Auk. Vol. 137: 1-26.

Mazzoni, D & R. Dannenberg.2000. Audacity software (3.6), 2024. Audio Editor. www.audacityteam.org

Norambuena, H., Barros, R & Raimilla, V. 2011. Presencia del Churrín del Norte (*Scytalopus fuscus*) en la cordillera de Nahuelbuta, región de la Araucanía, Chile. Bol. Chi. Orn. 17:109–112.

Riveros, G. & Villegas, N. 1994. Análisis taxonómico de las subespecies de *Scytalopus magellanicus* (Fam. Rhinocryptidae aves) a través de sus cantos. Anales del Museo de Historia Natural de Valparaíso. 22:91-101.

Rozzi, R., Armesto, JJ., Correa, A., Torres-Mura, JC & M. Sallaberry.1996. Avifauna of primary temperate forests of uninnhabited islands of Chiloé Archipelago, Chile. Revista Chilena de Historia Natural 96(11):77-87

Rozzi,R. & JE. Jimenez. 2014. Magellanic Sub-antarctic ornithology: first decade of bird studies at the Omora Ethnobotanical Park, Cape Horn Biosphere reserve, Chile. University of northTexas press, Denton, TX, USA.

Schmitt, F.2024. *Scytalopus magellanicus*. código: XC895195. Naturalis biodiversity center. Xeno canto Foundation website©2005-2024. http://www.xeno-canto.org/536273

Schmthüssen, J.1956. Die aumliche Ordnung der Chilenischen vegetation. Bonner Geographische, Abhandl ungen. 17: 1-86

Troncoso, A.1991.Paleomegaflora de la formación Navidad, miembro Navidad (Mioceno), en el área de Matanzas, Chile Central Occidental. Boletín Museo Nacional de Historia Natural (Chile). 42:131-168.

Vielliard J.1990. Estudo bioacústico das aves do Brasil: o genero *Scytalopus.* Ararajuba 1:5-18.

Villagrán, C.1991. Historia de los bosques templados del sur de Chile durante el tardiglacial y postglacial. Revista Chilena de Historia Natural. 64: 447-460. Chile.

Villagrán, C & l. Hinojosa.1997. Historia de los bosques del sur de Sudamérica, II: análisis fitogeográfico. Revista Chilena de Historia Natural. 70: 241-267. Chile.

Villagrán, C., Armesto JJ., Hinojosa F., Cuvertino J., Pérez., C & C. Medina. 2004. El enigmático origen del bosque relicto de Fray Jorge. Historia natural del parque nacional bosque Fray Jorge. (F.A. Squeo, J.R. Gutiérrez & J.R.

Hernández, Eds.). Ediciones Universidad de la Serena, La Serena, Chile. Cap. 1: 3- 43.

Figure 1. Navarino Tapaculo (*Scytalopus antarcticum*), adult male. Source: drawing by Francisco Correa.

Figure 2. Navarino Tapaculo (*Scytalopus antarcticum*), juvenile. Photo by author.

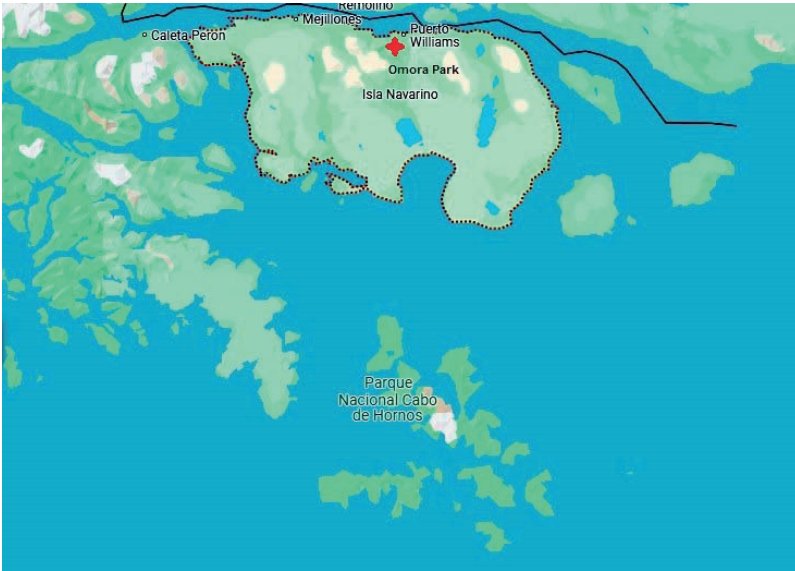



Figura 3. Ethnobotanical Park Omora, Isla Navarino, Puerto Williams, Cabo de Hornos, Chile. Source: Google Earth.

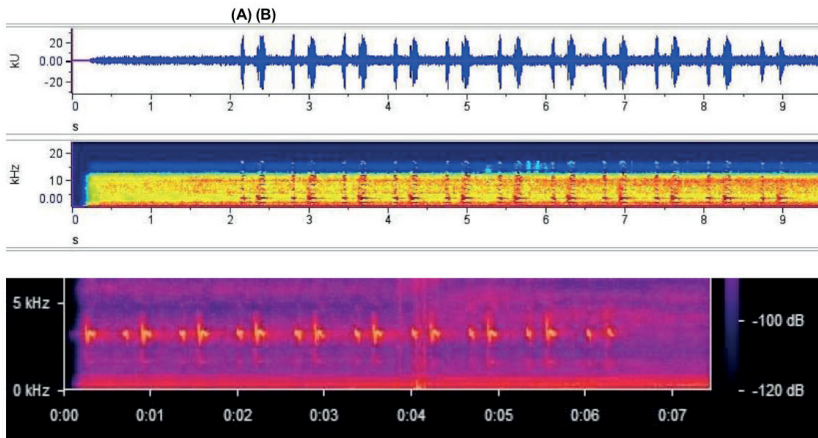



Figure 4: Spectrograms of the territorial vocalization of *S. antarcticum* (n=3). Raven and Acoustic Spectrum Analyzer Spek. Register by A.C

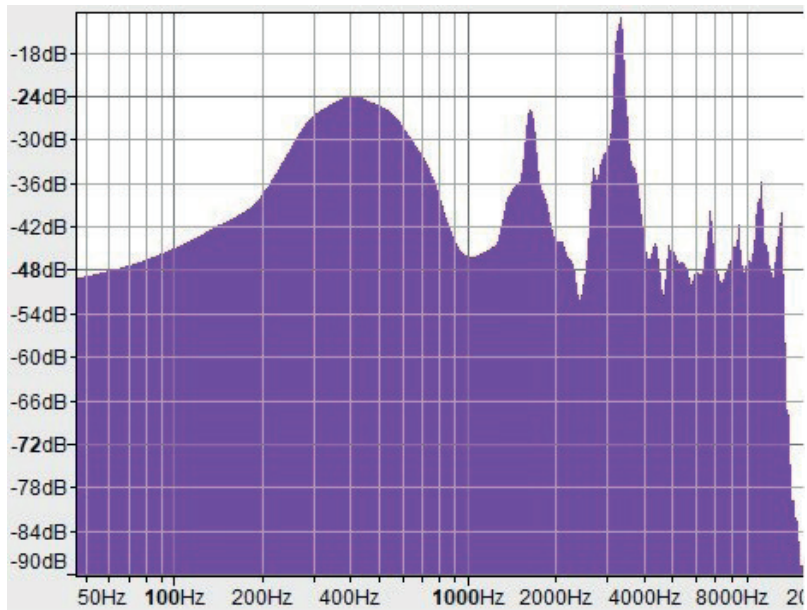



Figure 5. *S. antarcticum* frequency analysis graph ([fx] Hann window) (Audacity software)

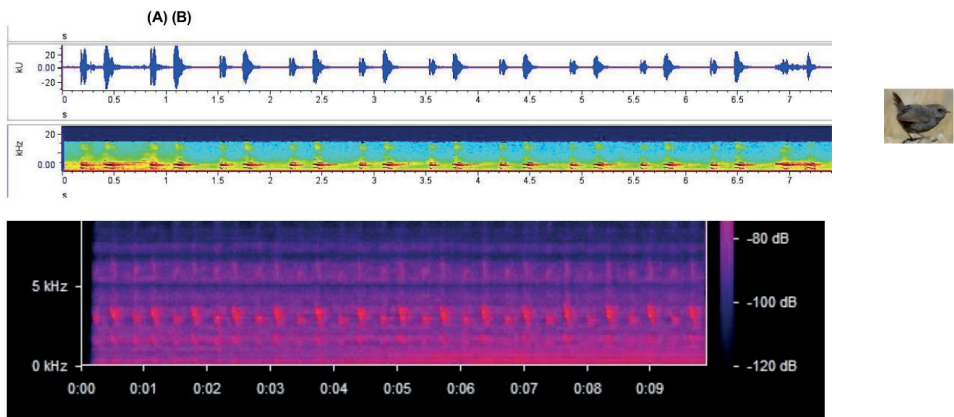



Figure 6. Spectrograms of the territorial vocalization of *S.magellanicus* (n=4) (Raven and Acoustic Spectrum Analyzer Spek). Register by B.L

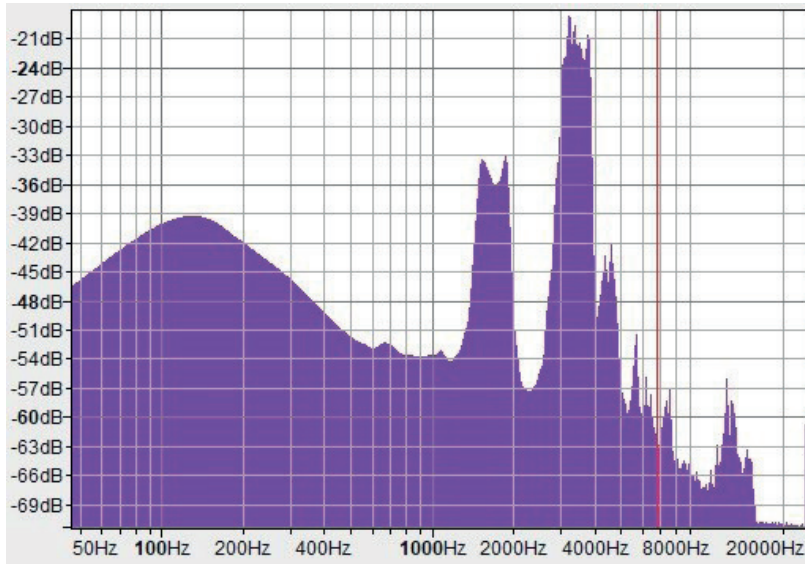



Figure 7. *S. magellanicus* frequency analysis graph ([fx] Hann window) (Audacity software)

PERFIL QUÍMICO E ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DO ÓLEO ESSENCIAL DOS BULBILHO DE *Allium sativum* L. EM COMPARAÇÃO COM ALICINA: UMA REVISÃO DE LITERATURA

Data de submissão: 07/10/2024 *Data de aceite: 01/11/2024*

José Ricardo Ferreira Guedes
Centro Universitário Dr. Leão Sampaio – UniLeão, Juazeiro do Norte, CE

José Walber Gonçalves Castro
Centro Universitário Dr. Leão Sampaio – UniLeão, Juazeiro do Norte, CE

Priscilla Ramos Freitas
Centro Universitário Dr. Leão Sampaio – UniLeão, Juazeiro do Norte, CE

Lariza Leisla Leandro Nascimento
Universidade Regional do Cariri, Departamento de Química Biológica, Crato, CE

José Weverton Almeida-Bezerra
Universidade Regional do Cariri, Departamento de Química Biológica, Crato, CE

Ademar Maia Filho
Universidade Regional do Cariri, Departamento de Ciências Biológicas, Crato, CE

Maria Hellena Garcia Novais
Universidade Federal do Cariri, Barbalha, CE

Germana de Alencar Maia Luz
Universidade Federal do Piauí, Teresina, PI

Francisco Sydney Henrique Félix
Universidade Estadual do Ceará, Fortaleza, CE

Xenia Germana Rodovalho de Alencar
Universidade Regional do Cariri, Departamento de Ciências Biológicas, Crato, CE

Luiz Filipi Teles Feitosa
Centro Universitário Estácio do Ceará, Fortaleza, CE

Damiana Gonçalves de Sousa Freitas
Universidade Regional do Cariri, Departamento de Ciências Biológicas, Crato, CE

RESUMO: Os bulbilhos do Alho (*Allium sativum*) são uma valiosa fonte de compostos bioativos responsáveis por diversos benefícios para a saúde. A alicina, seu principal constituinte, é formada quando o alho é cortado ou esmagado, pela ação da enzima alliinase, convertendo *Alliin* em alicina. Esta molécula apresenta propriedades antimicrobianas contra bactérias, fungos e vírus, além de propriedades antioxidantes, podendo ser aplicada em medicina tradicional,

nutracêuticos e produtos de cuidados pessoais. Diante disso este estudo tem como objetivo analisar o perfil químico e a atividade antibacteriana do óleo essencial dos bulbilhos de Allium sativum L. em comparação com alicina. Trata-se de um estudo de revisão integrativa da literatura com abordagem descritiva, projetada para abordar de maneira imparcial e abrangente todos os aspectos de um tema específico. A coleta de dados foi realizada nos meses de fevereiro a julho através de bases de dados acessíveis. Foram incluídos no estudo artigos publicados entre os anos de 2005 a 2024 nos idiomas inglês, português e espanhol. Ao final desse estudo conclui-se que o perfil químico dos bulbilhos de *Allium sativum* L. possui potencial contribuinte para a investigação da atividade antibacteriana do seu óleo essencial, em comparação com a alicina. Portanto, explorar e compreender melhor essas potencialidades pode abrir caminho para novas aplicações terapêuticas e benefícios à saúde.
PALAVRAS-CHAVE: *Allium Sativum* L. Antibacteriano. Alicina. Perfil químico. Revisão.

CHEMICAL PROFILE AND ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF ESSENTIAL OIL FROM BULBS OF Allium sativum L. IN COMPARISON WITH ALLICIN: A LITERATURE REVIEW

ABSTRACT: Garlic bulbs (*Allium sativum*) are a valuable source of bioactive compounds responsible for several health benefits. Allicin, its main constituent, is formed when garlic is cut or crushed by the action of the enzyme alliinase, converting Alliin into allicin. This molecule has antimicrobial properties against bacteria, fungi and viruses, in addition to antioxidant properties, and can be applied in traditional medicine, nutraceuticals and personal care products. Therefore, this study aims to to analyze the chemical profile and antibacterial activity of the essential oil from the bulbs of Allium sativum L. in comparison with allicin. This is an integrative literature review study with a descriptive approach, designed to address all aspects of a specific topic in an impartial and comprehensive manner. Data collection was carried out from February to July through accessible databases. Articles published between 2005 and 2024 in English, Portuguese and Spanish were included in the study. At the end of this study, it was concluded that the chemical profile of the bulbs of Allium sativum L. has the potential to contribute to the investigation of the antibacterial activity of its essential oil, in comparison with allicin. Therefore, exploring and better understanding these potentialities can pave the way for new therapeutic applications and health benefits.
KEYWORDS: *Allium Sativum* L. Antibacterial. Allicin. Chemical profile. Review.

1 I INTRODUÇÃO

Através dos tempos, as plantas medicinais tiveram um papel fundamental como fonte de remédios naturais e na descoberta de novos tratamentos. O uso da fitoterapia como parte integrante da prática médica está se tornando cada vez mais comum em diversos países, incluindo o Brasil. A utilização de plantas medicinais é facilitada pela ampla diversidade de espécies vegetais e pelo custo acessível associado à terapia, o que desperta interesse tanto nos programas de saúde quanto nos profissionais da área. Uma ampla variedade de compostos fitoquímicos ativos têm sido utilizados tanto na prevenção quanto no tratamento de doenças graves. Essa riqueza natural serve como base para

os medicamentos fitoterápicos, evidenciando sua complexidade e distinção em relação às drogas sintéticas (AHMAD et al., 2023; GADELHA et al., 2013; GUO et al., 2023)

As propriedades que combatem microrganismos encontradas nos extratos e óleos essenciais de plantas, resultado de seu processo metabólico secundário, foram empiricamente reconhecidas ao longo de muitos séculos e recentemente confirmadas pela ciência. Estudos sobre tais características em plantas nativas foram realizados em vários países, incluindo Brasil, que possui uma riqueza de flora e uma tradição duradoura no uso de plantas medicinais como agentes antibacterianos ou antifúngicos (DUARTE, 2006). Os inúmeros estudos têm se dedicado a investigar as propriedades biológicas dos óleos essenciais derivados das espécies de *Allium*, evidenciando suas notáveis atividades antioxidantes e antimicrobianas. Todos os óleos exibiram capacidade antioxidante, destacando-se a chalota e o alho-poró nesse aspecto. Além disso, apresentaram potente atividade antibacteriana, com especial ênfase para o alho, a cebola e a cebolinha chinesa. Os compostos organossulfurados presentes nessas plantas têm revelado um promissor potencial terapêutico no combate a diversas doenças, incluindo câncer e condições cardiovasculares (BASTAKI et al., 2021).

A planta *Allium sativum* L., conhecida como alho, é amplamente reconhecida por suas notáveis propriedades biológicas e medicinais, graças à sua composição rica em diversos compostos bioativos. Esses compostos incluem fenólicos, óleos essenciais, compostos sulfurados, flavonoides, substâncias voláteis, minerais e vitaminas. Tal diversidade de compostos confere ao alho uma ampla gama de benefícios para a saúde, como propriedades antioxidantes, antimicrobianas, anti-inflamatórias e cardiovasculares (SASI et al., 2021).

As espécies do gênero *Allium* possuem uma composição química complexa, caracterizada pela presença abundante de organossulfurados e polifenóis. Além disso, são fontes importantes de carboidratos, aminoácidos essenciais e vitaminas, destacando-se especialmente pela concentração significativa de flavonoides, conhecidos por sua atividade antioxidante. Estudos também têm evidenciado a eficácia antimicrobiana dessas plantas contra uma variedade de microrganismos. Essas propriedades contribuem não apenas para o valor nutricional das espécies de Allium, mas também para seu potencial terapêutico (FREDOTOVIĆ; PUIZINA, 2019). A alicina, um composto sulfurado presente no alho, exibe atividade antioxidante devido à sua estrutura semelhante ao dimetilsulfeto, conhecido por sua eficácia na neutralização de radicais livres. Isso resulta em efeitos benéficos na coagulação sanguínea, prevenção da aterosclerose, regulação dos níveis de colesterol e redução do estresse oxidativo. Além de suas propriedades antioxidantes, a alicina também demonstra atividade antibacteriana, antifúngica e antiparasitária (SANTOS, 2013).

A alicina é o principal constituinte responsável pelas propriedades farmacológicas do alho. Entretanto, sua eficácia pode ser comprometida por altas temperaturas ou pela ingestão simultânea de refeições ricas em proteínas, o que retarda sua absorção

pelo estômago. Portanto, futuros estudos clínicos devem considerar esses achados ao selecionar os produtos de alho para investigação. Esses resultados também fornecem diretrizes para o desenvolvimento de novas formulações que visem melhorar a absorção da alicina e, assim, potencializar os efeitos benéficos do alho (TORRES, 2021). Portanto, o presente estudo tem como objetivo analisar o perfil químico e a atividade antibacteriana do óleo essencial dos bulbilhos de *Allium sativum* L. em comparação com alicina.

2 I MATERIAIS E MÉTODOS

O estudo foi elaborado no primeiro semestre do ano de 2024. A coleta de dados foi realizada nos meses de fevereiro a julho através de bases de dados acessíveis via internet como o *Scielo*, *PubMed* e Google acadêmico, através das palavras chaves "*Allium Sativum* L", "Antibacteriano", "Alicina", "Perfil químico" e "Modulação". Foram incluídos no estudo artigos publicados entre os anos de 2005 a 2024 nos idiomas inglês, português e espanhol, sendo excluídos artigos duplicados e de anos anteriores ao que foi proposto, bem como aqueles que se caracterizam apenas no formato de resumo. Além disso, serão excluídos os artigos que, mediante leitura do título e do resumo, evidenciarem que não abordam o tema do presente trabalho.

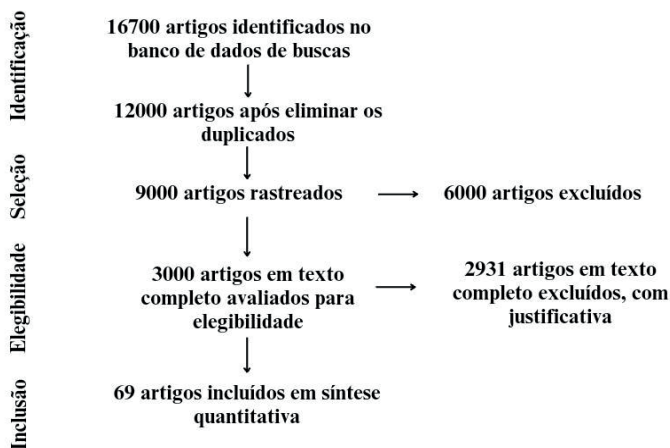



FIGURA 1 - Esquematização das etapas para seleção dos artigos.

3 I REVISÃO

3.1 Fitoterapia

O crescente interesse nos medicamentos fitoterápicos como alternativa aos tratamentos convencionais destaca a necessidade de compreender sua complexa composição de fitocompostos. Em contraste com drogas sintéticas, os fitoterápicos apresentam ações multialvo e multivias, exigindo uma avaliação cuidadosa antes do

tratamento para garantir eficácia e segurança. Este artigo explora essa importância na prática clínica (SHINKAI et al., 2023). Ao longo da história, as plantas medicinais desempenharam um papel crucial como fonte de fitoterápicos e na descoberta de novos fármacos, sendo o reino vegetal a principal fonte de medicamentos. A utilização de plantas medicinais é facilitada pela vasta diversidade vegetal e pelo baixo custo associado à terapia, o que despertou o interesse dos programas de saúde e dos profissionais da área (GADELHA et al., 2013).

Desde tempos remotos os produtos naturais têm influenciado positivamente a qualidade de vida humana. Uma vasta gama de fitoquímicos ativos tem sido incorporada tanto na prevenção quanto no tratamento de doenças graves. Essa abundância na natureza serve como base para os medicamentos fitoterápicos, destacando sua complexidade e diferenciação em relação às drogas sintéticas. Essa complexidade ressalta a necessidade de uma abordagem abrangente na prescrição de fitoterápicos na prática clínica moderna (AHMAD et al., 2023). Observa-se um aumento significativo na utilização de fitoterápicos pela população brasileira. Diversos fatores contribuem para esse crescimento, incluindo a implementação de políticas que regulamentam o uso de plantas medicinais e fitoterápicas. Além disso, avanços científicos têm possibilitado o desenvolvimento de fitoterápicos reconhecidamente seguros e eficazes. Existe também uma tendência crescente na população em buscar terapias menos invasivas e mais acessíveis em termos de custo, especialmente no contexto do atendimento primário à saúde (Borges; Sales, 2018). O quadro 1 apresenta fitoterápicos ofertados pelo SUS no Brasil.

Nome popular	Nome científico	Indicação
Espinheira santa	Maytenus ilicifolia	Auxilia no tratamento de gastrite e úlceras duodenal e sintomas de dispepsias.
Guaco	Mikania	Apresenta ação expectorante e broncodilatadora.
Alcachofra	Cynara scolymus	Tratamento dos sintomas de dispepsia funcional e hipercolesterolemia leve a moderada. Apresenta ação colagoga e colerética.
Aroeira	Schinus terebenthifolius	Apresenta ação cicatrizante, anti-inflamatória é antisséptico tópica, para uso ginecológico.
Cáscara-sagrada	*Rhamnus purshiana*	Auxilia nos casos de obstinação intestinal eventual.
Garra-do-diabo	Harpagophytum procumbens	Tratamento de dor lombar baixa aguda e como coadjuvante nos casos de osteoartrite. Apresenta ação anti-inflamatória.
Isoflavona-de-soja	Glycine Max	Auxilia no alívio dos sintomas do climatério.
Unha de gato	Uncaria tomentosa	Auxilia nos casos de artrites e osteoartrites, apresenta ação anti-inflamatória e imunomoduladora.
Hortelã	Mentha x piperita	Tratamento da sindrome de cólonirritável. ação anti-inflamatóriae antiespasmódicas.

Babosa	Aloe vera	Tratamento tópico de queimadurasde 1° e 2° graus e como coadjuvante aos casos de psioriase vulgares.
Salgueiro	Salix alba	Tratamento de dor lombar baixa aguda. Apresenta ação anti-inflamatória.
Plantago	Plantago ovata	Auxilia nos casos de obstipação intestinal habitual. Tratamento da síndrome do cólon irritável.

Quadro 1 - Relação de fitoterápicos ofertados pelo SUS, Brasil

Fonte: Borges; Sales (2018) com base em portarias do Ministério da Saúde.

A medicina chinesa, com sua abordagem multifacetada e baseada em fitoquímicos, oferece um perfil de segurança favorável e vantagens no tratamento de doenças metabólicas como o diabetes. Um exemplo é o “Comprimido de alcalóides Ramulus Mori”, desenvolvido ao longo de 21 anos pela Academia Chinesa de Ciências Médicas. Este é o primeiro novo medicamento chinês para diabetes aprovado na China em uma década (AN et al., 2023). Os estudos em três grupos étnicos na Etiópia central-sul destacam diferenças no conhecimento etnomedicinal com base em plantas. A análise revelou que a idade está positivamente associada ao conhecimento sobre plantas medicinais. As plantas *Croton macrostachyus* Hochst. Ex Delile, *Albizia gummifera* CASm., *Zingiber officinale* Roscoe, *Aloe macrocarpa* Tod., *Gymnanthemum amygdalinum* (Delile) Sch.Bip., *Calpurnia aurea* (Aiton) Benth e *Allium sativum* L., foram identificadas como importantes na medicina tradicional devido suas propriedades biológicas (TAMENE et al., 2024).

Durante três anos de colheita, as folhas de alho apresentaram teores mais elevados de vitamina C em comparação com os dentes de plantas jovens. Além disso, foi observado um conteúdo significativamente maior de polifenóis nas folhas da cultivar Ornak colhidas em maio em comparação com junho. As folhas colhidas em maio também demonstraram ser uma fonte melhor de proteína, gordura bruta e vitamina C em comparação com as folhas de plantas totalmente desenvolvidas colhidas em julho (SKOCZYLAS et al., 2023). O alho (*Allium sativum*) é reconhecido há muito tempo por suas propriedades medicinais, impulsionando o sistema imunológico e combatendo uma variedade de doenças. Os compostos sulfurados presentes no alho não apenas reduzem a pressão arterial e o colesterol, mas também impedem a formação de coágulos, diminuindo assim o risco de doenças cardiovasculares. Além disso, os dentes de alho contêm uma composição rica em água, minerais e vitaminas essenciais, incluindo A, B1, B2, B3 e C, juntamente com óleo essencial e nutrientes como cálcio, iodo, silício, ferro e selênio (BRAGA, 2020).

3.2 Atividade e resistência antimicrobiana

As propriedades antimicrobianas presentes nos extratos e óleos essenciais de plantas, resultado do seu metabolismo secundário, têm sido reconhecidas empiricamente

por séculos e apenas recentemente confirmadas pela ciência. Estudos sobre essas atividades em plantas nativas foram conduzidos em diversos países, como Brasil, Cuba, Índia, México e Jordânia, que possuem uma abundante flora e uma longa tradição no uso de plantas medicinais como agentes antibacterianos ou antifúngicos (DUARTE, 2006).

Para avaliar a atividade antibacteriana e antifúngica de diferentes extratos, vários métodos podem ser empregados, sendo os mais comuns: difusão em ágar por poço, disco-difusão e métodos de macrodiluição e microdiluição em caldo. Tanto os métodos de difusão em ágar quanto em caldo são amplamente reconhecidos para quantificar a atividade in vitro de agentes antimicrobianos contra isolados bacterianos específicos. Na determinação da Concentração Inibitória Mínima ou da Concentração Bactericida Mínima de extratos vegetais, o método de microdiluição em caldo é frequentemente preferido (BONA et al., 2014). O aumento da resistência de microrganismos, como fungos, aos tratamentos convencionais, juntamente com os efeitos tóxicos associados a esses tratamentos, tem impulsionado significativamente a pesquisa de plantas em busca de propriedades terapêuticas. Esse campo de estudo está cada vez mais focado em identificar plantas com atividade antimicótica, especialmente contra cepas de *Candida albicans*, uma levedura frequentemente envolvida na etiologia de infecções fúngicas (SARTO; JUNIOR, 2014).

A resistência antimicrobiana emerge como um dos principais desafios de saúde do século, estreitamente associada ao uso amplo de antibióticos e outros agentes antimicrobianos. Esse fenômeno se manifesta quando os microrganismos deixam de responder aos tratamentos medicamentosos disponíveis (ZEMEDE et al., 2024). A resistência antimicrobiana aos longos dos anos vem se dando devido a maneiras displicentes ao uso de antibióticos, aspecto esse que não engloba apenas alguns países, mas de maneira mundial. Nos últimos 20 anos, foram feitos esforços para otimizar a utilização de antibióticos em hospitais de todo o mundo como forma de enfrentar a crescente ameaça da resistência aos antibióticos. Apesar de evidências robustas que apoiam a prática ideal, a tomada de decisões sobre antibióticos permanece abaixo do ideal em muitos ambientes, inclusive em hospitais (BRISLEY; LAMBERT; RODRIGUEZ, 2023).

A utilização indiscriminada de antimicrobianos na prática, é uma ocorrência frequente. Como resultado, observa-se um aumento constante no isolamento de cepas patogênicas que apresentam resistência a múltiplos antimicrobianos. Além disso, outro aspecto preocupante é a presença de bactérias formadoras de biofilme no trato externo, o que pode dificultar a ação dos antimicrobianos e perpetuar a presença do microrganismo no ambiente (CHARANI; HOLMES, 2019).

Vários estudos investigam as propriedades biológicas dos óleos essenciais das espécies de *Allium*, destacando suas atividades antioxidante e antimicrobiana. Todos os óleos mostraram atividade antioxidante, com a chalota e o alho-poró se destacando. Além disso, apresentaram atividade antibacteriana, especialmente o alho, cebola e cebolinha chinesa. Os compostos organossulfurados dessas plantas mostraram potencial terapêutico

contra diversas doenças, incluindo câncer e doenças cardiovasculares (BASTAKI et al., 2021).

A presença de actinobactérias com habilidade de decompor polissacarídeos vegetais, como xilana, amido, celulose e pectina, desempenha um papel crucial na ciclagem de nutrientes, ao degradar moléculas complexas, contribuindo para a manutenção da vida de solos provenientes de regiões suscetíveis à desertificação conservando os componentes microbianos em ecossistemas terrestres, os microrganismos presentes no solo desempenham um papel fundamental em uma variedade de processos ecossistêmicos que são essenciais para sustentar a produção e a sustentabilidade ambiental (LOHINIVA et al., 2021).

O estado do alho para a preparação do extrato afeta diretamente a atividade antimicrobiana, em experimentos foi demonstrado que alho não cozido possui uma capacidade de inibir o crescimento de espécies fúngicas de *C. albicans*, bactérias Gram-negativas *Escherichia coli* e *Salmonella* sp. e, em menor extensão, S. *pneumoniae* Gram-positivas. O fato de cozinhar o alho por até 15 minutos resultou em zonas mínimas de inibição dos microrganismos testados (THOMAS; MCCLEAR; OMOREGIE, 2023).

Desde tempos antigos, *Allium sativum* tem sido empregado como um fitoterápico para uma variedade de enfermidades. As suas propriedades antibacterianas, antifúngicas, antivirais, anti-helmínticas e antiprotozoárias, reforçam a capacidade do alho de inibir o crescimento microbiano, corroborando descobertas anteriores. Essas constatações sugerem que o alho pode representar uma alternativa viável no tratamento de infecções bacterianas e fúngicas (FONSECA et al., 2014).

3.3 Composição química

A espécie *Allium sativum* L. é reconhecida por suas propriedades biológicas e medicinais notavelmente significativas, pois contém uma vasta gama de compostos bioativos. Entre esses compostos estão os fenólicos, óleos essenciais, compostos contendo enxofre, flavonoides, voláteis, minerais e vitaminas. Essa riqueza de compostos confere ao alho uma variedade de benefícios à saúde, incluindo propriedades antioxidantes, antimicrobianas, anti-inflamatórias e cardiovasculares (SASI et al., 2021).

O óleo extraído do alho foi identificado como o principal ingrediente antibacteriano, capaz de destruir a estrutura e o processo metabólico das células bacterianas. Além disso, o trissulfeto de dialila e a S-propargil-l-cisteína demonstraram capacidade de bloquear o ciclo celular na fase G2/M. Por outro lado, a S-alil-cisteína induziu a parada do ciclo celular na fase G1/S, enquanto a alicina levou à interrupção do ciclo celular durante a fase S. Os sulfetos orgânicos, como a alicina, a alina, o dissulfeto de dialila, o trissulfeto de dialila, o ajoeno e a S-alil-cisteína, são os principais componentes bioativos no alho (SHANG et al., 2019).

Os testes realizados em espécies do gênero *Allium* inibiram a proliferação das células AGS através da indução de apoptose, e a morte celular apoptótica envolve tanto as vias intrínsecas quanto extrínsecas. Além disso, o alin promoveu a parada na fase S das células AGS, impedindo que estas entrassem na fase G2/M. Esses dados indicam que o alho, uma especiaria medicinal, pode ser explorado em detalhes devido às suas várias propriedades farmacêuticas, o que pode representar uma terapia potencialmente eficaz para o câncer de estômago (VASANTHI et al., 2018).

O bulbo de alho contém aproximadamente 65% de água, 28% de carboidratos (principalmente frutanos), 2% de proteína (principalmente alina), 1,2% de aminoácidos livres (principalmente arginina), 1,5% de fibras e 2,3% de compostos organossulfurados. A allicina é altamente instável e se decompõe instantaneamente para formar vários compostos solúveis em óleo, incluindo dissulfeto de dialila, trissulfeto de dialila, ditiona de vinil e ajoene, se as condições forem adequadas (ZHANG *et al.*, 2020).

O processamento do alho cru pode resultar em uma variedade de compostos, sendo o envelhecimento um método superior que gera substâncias hidrofílicas e hidrofóbicas através de reações enzimáticas e químicas. Durante o envelhecimento, compostos voláteis reagem com outros para formar constituintes benéficos no Extrato de Alho Envelhecido (AGE), ampliando sua diversidade. Este método é preferível devido às propriedades biológicas úteis encontradas nos constituintes do AGE, que são benéficas para a saúde humana (KODERA et al., 2019).

As várias espécies do gênero *Allium*, incluindo *A. cepa, A. sativum, A. fistulosum, A. schoenoprasum, A. ursinum, A. flavum, A. scorodoprasum, A. vineale e A. atroviolaceum,* desempenham um papel vital na promoção da saúde, graças aos seus metabólitos secundários que possuem uma variedade de atividades biológicas, como antioxidante, antimicrobiana, antibacteriana, antifúngica e anti-inflamatória (KURNIA et al., 2021).

O alho tem sido amplamente utilizado por suas propriedades nutricionais e medicinais, sendo empregado globalmente como uma erva para a prevenção e gerenciamento de diversas condições de doenças, incluindo o câncer. Dentre os diferentes fitoconstituintes do alho, diversos compostos, como allicin, S-alilcisteína, dissulfeto de dialila, dissulfeto de dialila e trissulfeto de dialila, exibiram atividades antineoplásicas significativas contra vários modelos de câncer, especialmente após a fermentação de longo prazo do alho triturado em meio aquoso, como demonstrado na produção de extratos de alho envelhecido (MONDAL et al., 2022).

As espécies de *Allium* têm uma composição química complexa, rica em organossulfurados e polifenóis. Além de carboidratos, aminoácidos essenciais e vitaminas, são fontes significativas de flavonoides, destacando-se por sua atividade antioxidante. Demonstraram também eficácia antimicrobiana contra diversos microrganismos. Essas propriedades contribuem para sua valorização nutricional e potencial terapêutico (FREDOTOVIĆ; PUIZINA, 2019).

O óleo essencial extraído do bulbo do alho, em concentrações de 0,1 a 0,2%, contém aproximadamente 53 constituintes voláteis, a maioria dos quais são derivados orgânicos do enxofre, destacando-se o ajoeno, alicina e aliina. O efeito farmacológico do *Allium sativum* L. está associado aos compostos organosulfurados (COS), que totalizam cerca de 33 tipos, com uma média de 11 a 35 mg desses compostos encontrados em cada grama do vegetal fresco (NEVES, 2013). O Quadro 2 apresenta alguns desses compostos encontrados na espécie *Allium sativum* L. e suas respectivas atividades biológicas.

Compostos	Atividade biológica
Alina	Hipotensor, hipoglicemiante
Ajoene	Prevenção de coágulos, antiinflamatório, vasodilatador, hipotensor, antibiótico
Alicina e tiossulfatos	Antibiótico, antifúngico, antiviral
Alil mercaptano	Hipocolesteromiante
Dialil sulfeto	Hipocolesteromiante
S-alil-cisteina e compostos y-glutamico	Hipocolesteromiante, antioxidante, prevenção do câncer

Quadro 2 - Compostos presentes no *Allium sativum* L. e suas atividades biológicas.

Fonte: Adaptado de Neves (2013).

3.4 Informações botânicas

3.4.1 Família Liliacea

A família Liliacea é vasta, contando com 220 gêneros e aproximadamente 3.500 espécies. Predominantemente herbáceas, suas características incluem caules subterrâneos, folhas alternadas geralmente lanceoladas, inflorescências em racemos e flores vistosas, frequentemente actinomorfas ou zigomorfas, com perianto corolino, trímero, e duas séries de três tépalas cada. Possuem seis estames livres, ovário superior ou semi-inferior, fruto seco e sementes com endosperma carnoso. As flores desta família são sempre bissexuadas e actinomorfas (ZEN; ACRA, 2005).

Os membros desta família têm uma ampla distribuição global, sendo raros no Brasil. Sua importância é maior no antigo continente do que na América. De acordo com Judd *et al.*, as flores são polinizadas por insetos, principalmente abelhas, vespas, borboletas e mariposas, que recebem néctar e/ou pólen como recompensa. *Agapanthus africanus* (L.) *Hofmanns* é uma planta herbácea rizomatosa, perene e florífera, originária do sul da África, com uma altura de 30-60 cm, folhas lanceoladas que brotam da base, longas, carnudas, glabras e ornamentais (LI-GEN LIN et al., 2016).

3.4.2 Gênero Allium

As espécies do gênero *Allium* têm sido utilizadas em várias culinárias ao redor do mundo há séculos. Anteriormente classificadas nas famílias Alliaceae e Liliaceae, atualmente pertencem à família Amaryllidaceae de plantas monocotiledôneas. Este amplo grupo inclui aproximadamente 918 espécies heterogêneas endêmicas das regiões secas e temperadas do hemisfério norte. São plantas perenes resistentes, caracterizadas por bulbos verdadeiros ou bulbos vestigiais menos desenvolvidos ligados a rizomas, além de possuírem órgãos de armazenamento subterrâneos (ALAM *et al*., 2022).

Os experimentos utilizaram espécies de alhos e verificaram seu crescimento durante duas estações de crescimento A diversidade fenotípica e genotípica das cultivares de alho fornece uma base importante para a criação e a introdução de novas variedades, resultando em variações significativas em características como peso do bulbo, número de bulbos por planta, camadas de cobertura do bulbo, comprimento e diâmetro das folhas, e quantidade de folhas (AMMARELLOU et al., 2022).

Os vegetais pertencentes ao gênero *Allium*, como o alho-poró, são notáveis pela presença de diversos fitoquímicos, incluindo compostos organossulfurados, glicósidos de flavonol, glicosídeos de kempferol, luteína, frutanos, b-caroteno e vitaminas C e E. Estudos científicos indicam potenciais benefícios desses fitoquímicos para a saúde humana (TORRES, 2011).

3.4.3 Espécie Allium savitum L.

Uma planta herbácea com altura de até 60 cm, caracterizada por folhas pontiagudas e achatadas, e bulbos divididos em bulbilhos compridos, envoltos em túnicas esbranquiçadas facilmente destacáveis. As flores, em cachos, apresentam coloração rosada ou branca. Para o plantio, é recomendado manter um espaçamento de 15 cm entre os bulbilhos, a uma profundidade de 5 cm, em solos ricos em matéria orgânica e com boa drenagem. Adubação com esterco ou composto orgânico é aconselhada, evitando-se a proximidade da data de plantio (SOPHA et al, 2024).

Os produtores de alho têm empregado dados de tempo de vernalização, temperaturas e estágio de maturação do dente de alho-semente para cada variedade e região. Temperaturas de vernalização abaixo de zero resultam em aumentos significativos na produtividade e qualidade dos bulbos da variedade Ito em condições de Cerrado. Além disso, o estágio normal de maturação promove aumentos significativos na produtividade total dos bulbos (LUZ et al., 2023).

Altos rendimentos comerciais de *Allium sativum* estão associados a plantas mais altas, bulbos de maior diâmetro, massa de bulbos maior e maior número de bulbilhos. O diâmetro do bulbo e o número de bulbos comerciais são os caracteres que apresentam os efeitos diretos mais significativos no rendimento comercial do bulbo, além de efeitos

indiretos significativos em outros caracteres estudados associados ao rendimento comercial do bulbo (AUGUSTO et al., 2022).

O alho (*Allium sativum*), pertencente à família Liliaceae, é uma das plantas cultivadas mais antigas. Há milhares de anos, tem sido empregado como agente medicinal. Além de ser um dos vegetais bulbosos mais significativos, o alho é utilizado como tempero e agente aromatizante em alimentos (ALAM; HOQ; UDDIN, 2016).

Allium sativum é uma das culturas hortícolas mais antigas, com registros de seu uso há 5000 anos no Egito e na Índia, e há 4500 anos pelos babilônios, além de ser cultivado na China há pelo menos 4000 anos. Atualmente, cresce naturalmente na Ásia Central, mas já foi encontrado em uma área muito maior, possivelmente desde a China até a Ucrânia, passando pelo Egito e Índia. Sua longa história evidencia sua importância cultural e culinária, sendo utilizado como tempero e remédio há milênios (SIMON, 2020).

O odor característico do alho fresco, atribuído principalmente aos tiossulfinatos, permanece presente em produtos processados, como o alho envelhecido. Além dos compostos contendo enxofre, também são encontrados compostos não sulfurados que contribuem para o aroma, com composições variadas dependendo do método de envelhecimento utilizado (ABE; HORI; MYODA, 2019).

A utilização de sementes de alho livres de vírus resulta em bulbos com diâmetro maior e teores mais elevados de sólidos solúveis e sólidos totais, pungência e rendimento industrial, destacando a importância da saúde da semente para a qualidade do alho tanto para consumo fresco quanto para processamento industrial. As variedades Amarante, Cateto-Roxo e Hozan apresentaram os maiores teores de sólidos totais, sendo que a cultivar Hozan se destacou pelo maior diâmetro do bulbo e maiores teores de sólidos solúveis, pungência e índice industrial (BESSA *et al.,* 2020).

O uso de cravos de alho maiores resulta em plantas com bulbos de maior diâmetro e acidez titulável mais elevada. Por outro lado, o aumento do espaçamento entre as plantas resulta na redução dos teores de sólidos solúveis, açúcares solúveis totais, relação de sólidos solúveis para acidez titulável e sólidos totais, independentemente da saúde das sementes e do tamanho do cravo. Sementes de alho livres de vírus plantadas com espaçamento entre plantas de 12,5 a 15,0 cm geram plantas com bulbos de maior diâmetro e maior acidez titulável, pungência e índice industrial, possibilitando a produção de bulbos de melhor qualidade com boas perspectivas para industrialização (PEREIRA *et al*., 2019; SANTOS *et al.,* 2011).

Avaliando o genótipo de plantações de alho, tentaram identificar quais classes genômicas possuem mais capacidades comerciais, os caracteres como diâmetro polar do bulbo, peso do bulbo, número de dentes por bulbo, peso do dente, comprimento do dente e altura do pseudocaule podem ser considerados de valor meritório durante a seleção de genótipos desejáveis. Esses traços demonstraram associação positiva e significativa com o rendimento do bulbo, contribuindo consideravelmente para o aumento do rendimento

bulboso tanto diretamente quanto indiretamente (RANJITHA; VADDORIA; RAVAL, 2018).

Figura 2. Fase inicial de crescimento vegetativo do alho

3.5 Alicina atividade biológica

A alicina, um composto sulfonado encontrado no alho, exibe atividade antioxidante devido à sua semelhança estrutural com o dimetilsulfeto, conhecido por sua eficácia na neutralização de radicais livres. Isso resulta em efeitos benéficos na agregação plaquetária, aterosclerose, níveis de colesterol e redução do estresse oxidativo. Além de suas propriedades antioxidantes, a alicina também demonstra atividade antibacteriana, antifúngica e antiparasitária (Santos, 2013). A expressão imuno histoquímica de fibronectina e α-SMA, juntamente com a expressão de mRNA de citocinas inflamatórias como marcadores de fibrose hepática, revelou efeitos anti-inflamatórios e imunomodulatórios significativos após a administração profilática e tratamento de camundongos infectados com extrato de alho ou alicina. Esses achados sugerem que essas substâncias podem ser terapias complementares promissoras para esquistossomose (METWALLY et al*.,* 2018).

A alicina atua na regulação da sinalização celular e em diversos processos metabólicos, interagindo com GSH e tióis presentes em proteínas através da S-tiolação. Por outro lado, o dialil trissulfeto (DATS) reage com os tióis da glutationa celular por meio de uma reação de troca tiol-dissulfeto, gerando gás H2S que desempenha múltiplas funções reguladoras. Esses mecanismos químicos conferem tanto à alicina quanto ao DATS propriedades anticancerígenas, além de aumentar a sensibilidade das células tumorais à quimioterapia (ZHOU et al., 2022).

Em testes realizados com grupos para avaliar o ganho de peso e a atividade anti-hipertensiva, constatou que o tratamento com alicina por 30 dias reverteu totalmente o ganho de peso. Adicionalmente, observou-se um aumento na pressão arterial sistólica em um dos grupos estudados, sendo que esse efeito foi mitigado com a administração de alicina, evidenciando assim um efeito anti-hipertensivo do tratamento (SAID et al., 2023).

A alicina demonstrou inibir a citotoxicidade do LPS em células HK2 ao promover a via de sinalização Nrf2/HO-1. Além disso, sua atividade antioxidante e anti-inflamatória foi destacada, juntamente com sua capacidade de restaurar a disfunção mitocondrial e inibir a apoptose tanto in vivo quanto in vitro. Especificamente, a alicina mostrou-se eficaz na inibição da resposta inflamatória e do estresse oxidativo, ao mesmo tempo em que restaurava a função mitocondrial em células HK2 tratadas com lipopolissacarídeo (LPS) (LI; LIU; WANG, 2023).

A alicina e seus derivados, como ajoene, allitridin e garlicin, são considerados os compostos sulfurados orgânicos mais promissores do alho e são responsáveis por várias das suas atividades terapêuticas, incluindo a prevenção de infecções virais. Estudos clínicos randomizados que utilizaram diversas preparações comerciais de alho confirmaram

o efeito profilático deste alimento na prevenção e tratamento de várias infecções virais em humanos, abrangendo desde o resfriado comum e gripe até hepatite induzida por vírus e verrugas (ROUF et al., 2020).

Em experimentos realizados em camundongos, a suplementação com alho integral demonstrou a capacidade de atenuar a dislipidemia induzida por uma dieta rica em gordura (HFD) e os distúrbios no micro bioma intestinais associados a ela. Além disso, observou-se que o alho pode ajudar a reduzir os danos à morfologia do intestino delgado causados pela HFD e promover concentrações mais altas de ácido isobutírico, ácido n-butirato e ácido acetato, contribuindo assim para a saúde intestinal (CHEN et al*.,* 2019).

A avaliação da atividade antifúngica da alicina, demonstraram a partir de testes utilizando o método de disco difusão com cepas de *Haemophilus influenzae* por meio da fase gasosa no ensaio de placa de Petri invertida. O tamanho das zonas de inibição mostra uma clara relação dose-dependente com a exposição à alicina, na qual doses de 20 microlitros apresentaram um halo de inibição entre 40nm e 80nm (BORLINGHAUS et al., 2021).

A curva de tempo de morte utilizando a alicina, demonstraram a inibição da atividade metabólica e adesão dos biofilmes de *Trichosporon asahii* de maneira dependente da dose. Observou-se que, após a maturação e desenvolvimento dos biofilmes, a eficácia dos compostos de alicina na inibição da atividade fúngica foi reduzida de 40% para cerca de 13%. Indicando a capacidade da alicina de combater a formação e crescimento de biofilmes fúngicos, porém destacando a importância de considerar o estágio de desenvolvimento dos biofilmes (YANG et al., 2023). Foi relatado em estudo que a alicina causou um aumento global no grau de oxidação do proteoma de *Pseudomonas fluorescens* após um tratamento de 15 minutos. Demonstramos também que a alicina inibiu a atividade da DNA girase in vitro. Destacando a importância da alicina como um agente oxidante e sugerem mecanismos potenciais de tolerância em bactérias (REITER et al., 2019).

A alicina inibe a germinação de esporos de maneira dependente da concentração. Através de testes de zonas de inibição invertida, demonstrou-se que a alicina é capaz de inibir o crescimento de fungos pela fase gasosa da solução. Os resultados revelaram uma zona média de inibição de 1965mm2 para *Rhizopus stolonifer* e 2405mm2 para *Mucor racemosus*. Além disso, em testes de difusão em ágar, soluções de alicina apresentaram uma zona de inibição superior a 800mm2, confirmando sua capacidade antifúngica (SCHIER et al., 2023). Os experimentos conduzidos em camundongos com presença de neoplasias, os animais foram submetidos à injeção direta de extrato de alho por um período de vinte e um dias. Os resultados revelaram uma taxa de cura significativamente maior em comparação com outros extratos de frutas testados. Além disso, a viabilidade das células de carcinoma cervical e câncer de bexiga após a exposição ao extrato de alho mostrou-se abaixo de 20%, indicando uma forte eficácia na redução da viabilidade celular desses tipos de câncer (LI; LE; CUI, 2018).

Em testes para verificar o potencial terapêutico da alicina, demonstrou a capacidade de reduzir hemorragias intracerebrais, o modelo utilizando camundongos, verificou que tratamentos diários intraperitoneais com 50mg/kg de alicina reduziram significativamente o número de micróglia/macrófagos ativos, influenciando diretamente na infiltração no hematoma intracerebral e consequentemente a vitalidade de células neuronais (ATEF et al., 2023).

As várias cepas bacterianas resistentes a antibióticos, incluindo MRSA, bem como outras cepas multirresistentes enterotoxicogênicas de *E. coli*, *Enterococcus* e *Shigella*, foram descobertas como sensíveis à alicina. Sendo destacado o potencial antimicrobiano, em grande parte devido a presença de grupos tiol que interagem com as moléculas de alicina (SALEHI et al., 2019).

Os estudos evidenciaram a atividade antimicobacteriana e imunomoduladora do extrato de alho e de seu constituinte puro, a alicina, por meio de experimentos *in vitro* e *in vivo* no modelo murino de tuberculose. O extrato de alicina/alho mostrou forte resposta antimicobacteriana contra cepas sensíveis a medicamentos, MDR e XDR de TB, induzindo também citocinas pró-inflamatórias em macrófagos. Além disso, o tratamento com extrato de alicina/alho nos modelos murinos resultou em uma forte resposta protetora Th1, levando a uma redução drástica da carga micobacteriana (DWIVEDI et al., 2019; PASQUALI; PIMENTA, 2014).

Na verificação da atividade antimicrobiana da alicina diante de casos de estomatite de dentadura observaram que a Concentração Inibitória Mínima (CIM) da alicina para *C. albicans* foi de 8 μg/ml, enquanto a Concentração Mínima de Fungicida (MFC) foi de 16 μg/ml. Para *S. aureus*, tanto a CIM quanto a Concentração Bactericida Mínima (MBC) foram registradas como 8 μg/ml. Devido à sua atividade antimicrobiana, a alicina possui potencial para ser utilizada como tratamento tópico em infecções de mucosa (ZAINAL et al., 2021).

A alicina é o principal componente responsável pela atividade farmacológica do alho. No entanto, sua biodisponibilidade pode ser reduzida por altas temperaturas ou pelo consumo simultâneo de uma refeição rica em proteínas, o que retarda o esvaziamento gástrico. Futuros ensaios clínicos devem considerar esses achados ao selecionar os produtos de alho a serem testados. Esses resultados também oferecem diretrizes para desenvolver novas formulações que melhorem a biodisponibilidade da alicina e, consequentemente, os efeitos benéficos do alho (TORRES, 2021).

4 I CONCLUSÕES

Ao final desse estudo conclui-se que o perfil químico dos bulbilhos de *Allium sativum* L. possui potencial contribuinte para a investigação da atividade antibacteriana do seu óleo essencial, em comparação com a alicina. Os fitoterápicos, com destaque para o alho (Allium sativum), apresentam um vasto potencial terapêutico devido aos seus compostos

bioativos que conferem propriedades antimicrobianas, antioxidantes, anti-inflamatórias, e benefícios cardiovasculares. A utilização global das espécies do gênero Allium na medicina, tanto tradicional quanto moderna, evidencia não apenas sua rica composição química, mas também sua relevância contínua na promoção da saúde humana. Portanto, explorar e compreender melhor essas potencialidades pode abrir caminho para novas aplicações terapêuticas e benefícios à saúde.

REFERÊNCIAS

ABE, K.; HORI, Y.; MYODA, T. Volatile compounds of fresh and processed garlic (Review). **Experimental and Therapeutic Medicine**, v. 19, n. 2, 2019.

ADAMS, R. P**. Identification of essential oil componentes by gas chromatography/ quadrupole mass spectroscopy**, 4ª ed. Allured. Publish Corporation, 2001.

AHMAD, F. M. *et al*. Quercus floribunda Lindl. Ex A. Camus; a tremendous remedy against inflammation and associated symptoms. **Fitoterapia**, v. 170, n. 1, 2023.

ALAM, A. *et al. Allium* vegetables: Traditional uses, phytoconstituents, and beneficial effects in inflammation and cancer. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 63, n. 3, 2022.

ALAM, K.; HOQ, O.; UDDIN, S. Medicinal plant *Allium sativum*: A Review. **Journal of Medicinal Plants Studies**, v. 4, n. 6, 2016.

AMMARELLOU, A. *et al*. Biochemical and Botanical Aspects of *Allium sativum L*. Sowing. **BioTech**, v. 11, n. 2, 2022.

AN, X. *et al.* Ramulus Mori (Sangzhi) alkaloids tablets for diabetes mellitus: A regulatory perspective. **Fitoterapia**, v. 166, n. 1, 2023.

ARIMURA, G. *et al*. Herbivore Induced Defense Response in a Model Legume. Twospotted Spider Mites Induce Emission of (E) β Omicene and Transcript Accumulation of (E) β Omicene Synthase in Lotus japonicas. **Plant physiology**, v. 135, n.1, p. 1976-1983, 2004.

ATEF, Y. *et al.* Therapeutic effect of allicin in a mouse model of intracerebral hemorrhage. **Journal of Pharmacological Sciences**, v. 153, n. 4, 2023.

AUGUSTO, M. *et al.* Correlations between agronomic characters in garlic. **Pesquisa Agropecuaria Brasileira**, v. 57, n. 1, 2022.

BASTAKI, S. M. A. *et al*. Chemical constituents and medicinal properties of *Allium* species. **Molecular and Cellular Biochemistry**, v. 476, n. 12, 2021.

BESSA, A. T. M. *et al.* Quality of virus-free garlic grown under high altitude conditions in the semiarid region of the northeast of Brazil. **Revista Caatinga**, v. 33, n. 4, p. 945–953, out. 2020.

BONA, ELIANA ALMEIDA MIRA *et al.* Comparação de métodos para avaliação da atividade antimicrobiana e determinação da concentração inibitória mínima (cim) de extratos vegetais aquosos e etanólicos. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 81, n. 1, 2014.

BORGES, F. V.; SALES, M. D. C. Políticas públicas de plantas medicinais e fitoterápicos no Brasil: sua história no sistema de saúde. **Pensar Acadêmico**, v. 16, n. 1, 2018.

BORLINGHAUS, J. *et al.* Allicin, the Odor of Freshly Crushed Garlic: A Review of Recent Progress in Understanding Allicin's Effects on Cells. **Molecules**, v. 26, n. 6, 2021.

BRAGA, G. C. D. M. C. **Alho (*Allium sativum*) no tratamento da hipertensão arterial sistêmica**. 2020. Trabalho de Conclusão de Curso (graduação em Nutrição) - Anhanguera, São Paulo-SP, 2020.

BRISLEY, A.; LAMBERT, H.; RODRIGUEZ, C. Antibiotics in Catalan Primary Care: Prescription, Use and Remedies for a Crisis of Care. **Medical Anthropology**, v. 42, n. 7, 2023.

CHARANI, E.; HOLMES, A. Antibiotic Stewardship—Twenty Years in the Making. **Antibiotics**, v. 8, n. 1, 2019.

CHEN, K. *et al.* Preventive Effects and Mechanisms of Garlic on Dyslipidemia and Gut Microbiome Dysbiosis. **Nutrients**, v. 11, n. 6, 2019.

CLSI. **Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically; Approved Standard-**. Ninth Edition. CLSI document Clinical and Laboratory Standards Institute, 2012.

COUTINHO, H. D. M. *et al*. Enhancement of the antibiotic activy against a multiresistant *Escherechia coli* by *Mentha arvensis* L. and chlorpromazine. **Chemoterapy**, v. 54, n. 4, p. 1250-1318, 2008.

DODT, R. C. M. *et al.* Estudo experimental de uma intervenção educativa para promover a autoeficácia materna na amamentação. **Revista latino-americana de enfermagem**, v. 23, n. 4, p.725-732, 2015.

DUARTE, M. C. T. Atividade antimicrobiana de plantas medicinais e aromáticas utilizadas no Brasil. **Revista MultiCiência**, v. 7, n. 1, 2006.

DWIVEDI, V. P. *et al.* Allicin enhances antimicrobial activity of macrophages during Mycobacterium tuberculosis infection. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 243, n. 1, 2019.

FERREIRA. **Cultivo orgânico de hortaliças-bulbo: Alho**. 2013. Disponível em: <https://cultivehortaorganica.blogspot.com/2013/08/cultivo-organico-de-hortalicas-bulbo.htm l>. Acesso em: 2 maio. 2024.

FONSECA, G. M. *et al*. Avaliação da atividade antimicrobiana do alho (*Allium sativum Liliaceae*) e de seu extrato aquoso. **Revista brasileira de plantas medicinais**, v. 16, 2014.

FREDOTOVIĆ, Ž.; PUIZINA, J. Edible *Allium*species: chemial composition, biological activity and health effects. **Italian Journal of Food Science**, v. 31, n. 1, 2019.

GADELHA, C. S. *et al*. Estudo bibliográfico sobre o uso das plantas medicinais e fitoterápicos no Brasil. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 8, n. 5, 2013.

GUO, M. *et al*. Herbal Medicine Nanocrystals: A Potential Novel Therapeutic Strategy. **Molecules**, v. 28, n. 17, p. 6370–6370, 31 ago. 2023.

KODERA, Y. *et al.* Chemistry of aged garlic: Diversity of constituents in aged garlic extract and their production mechanisms via the combination of chemical and enzymatic reactions (Review). **Experimental and Therapeutic Medicine**, v. 19, n. 2, 2019.

KURNIA, D. *et al.* Antioxidant Properties and Structure-Antioxidant Activity Relationship of *Allium* Species Leaves. **Molecules**, v. 26, n. 23, 2021.

LI, X.-J.; LIU, T.; WANG, Y. Allicin ameliorates sepsis-induced acute kidney injury through Nrf2/HO-1 signaling pathway. **Journal of Natural Medicines**, v. 78, n. 1, 2023.

LI, Z.; LE, W.; CUI, Z. A novel therapeutic anticancer property of raw garlic extract via injection but not ingestion. **Cell Death Discovery**, v. 4, n. 1, 2018.

LIN, L. G. *et al*. Naturally Occurring Diterpenoid Dimers: Source, Biosynthesis, Chemistry and Bioactivities. **Planta Med**, v. 82, p. 1309–1328, 2016.

LOHINIVA, A.-L. *et al.* A theory-based exploration of antibiotic use in primary healthcare in Gezira state, Sudan. **Implementation Science Communications**, v. 2, n. 1, 2021.

LUZ *et al*. Vernalization temperature and maturation point of seed cloves on garlic production and quality. **Ciencia E Agrotecnologia**, v. 47, n. 1, 2023.

METWALLY, D. M. *et al.* Antischistosomal and anti-inflammatory activity of garlic and allicin compared with that of praziquantel in vivo. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v. 18, n. 1, 2018.

MONDAL, A. *et al.* Garlic constituents for cancer prevention and therapy: From phytochemistry to novel formulations. **Pharmacological Research**, v. 175, n. 1, 2022.

NEVES, K. S. P. **Aspectos químicos e farmacológicos do *Allium sativum linnaeus* (alho):** uma breve revisão. 2013. Monografia (Graduação em Farmácia) - Faculdade de Educação e Meio Ambiente – FAEMA, Ariquemes – RO, 2013.

PEREIRA, F. *et al.* Garlic quality as a functionof seed clove health and size and spacing between plants. **Revista Caatinga**, v. 32, n. 4, 2019.

RANJITHA, M.; VADDORIA, M.; RAVAL, L. J. Correlation and path coefficient studies in garlic (*Allium sativum* L.). **Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry**, v. 7, n. 5, 2018.

REITER, J. *et al.* Allicin, a natural antimicrobial defence substance from garlic, inhibits DNA gyrase activity in bacteria. **International Journal of Medical Microbiology**, v. 310, n. 1, 2019.

ROUF, R. *et al*. Antiviral potential of garlic (*Allium sativum*) and its organosulfur compounds: A systematic update of pre-clinical and clinical data. **Trends in Food Science & Technology**, v. 104, n. 1, 2020.

SAID, A. *et al.* Antioxidant and anti-inflammatory effects of allicin in the kidney of an experimental model of metabolic syndrome. **PeerJ**, v. 11, n. 1, 2023.

SALEHI, B. *et al.* Allicin and health: A comprehensive review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 86, n. 1, 2019.

SALVAT A.A. *et al.* Screenng of some plants from northern Argentina for their antimicrobial activty. **Letters in Applied Microbiology**, v. 32 p. 293-297, 2001.

SANTOS, F. P. **Efeitos antioxidantes da alicina**: Uma breve revisão. Monografia (Graduação em Farmácia) - Faculdade de Educação e Meio Ambiente, Ariquemes – RO, 2013.

SANTOS, J. C. *et al*. Atividade antimicrobiana in vitro dos óleos essenciais de orégano, alho, cravo e limão sobre bactérias patogênicas isoladas de vôngole. **Ciências Agrárias**, v. 32, n. 4, 2011.

SARTO, M. P. M.; JUNIOR, G. Z. Atividade antimicrobiana de óleos essenciais. **Uningá Review**, v. 20, n. 1, 2014.

SASI, M. *et al.* Garlic (*Allium sativum* L.) Bioactives and Its Role in Alleviating Oral Pathologies. **Antioxidants**, v. 10, n. 11, 2021.

SCHIER, C. *et al.* Combating Black Fungus: Using Allicin as a Potent Antifungal Agent against Mucorales. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 24, n. 24, 2023.

SHANG, A. *et al.* Bioactive Compounds and Biological Functions of Garlic (*Allium sativum L.*). **Foods**, v. 8, n. 7, 2019.

SHINKAI, R. S. *et al.* Phytotherapy: knowledge, experience and prescription in oral healthcare.A cross-sectional survey of dental practitioners. **Acta odontológica latinoamericana**, v. 36, n. 3, 2023.

SIMON, P. W. **Simon: Garlic Origins: USDA ARS**, 2020. Disponível em: <https://www.ars.usda.gov/midwest-area/madison-wi/vegetable-crops-research/docs/simon-ga rlic-origins>. Acesso em: 22 mar. 2024.

SIMOES, C. M. O. *et-al*. **Farmacognosia da planta ao medicamento**. 6ª ed. Elorianópolis. Editora da-UFSC, 2010.

SKOCZYLAS, J. *et al.* Basic Chemical Composition, Antioxidant Activity and Selected Polyphenolic Compounds Profile in Garlic Leaves and Bulbs Collected at Various Stages of Development. **Molecules**, v. 28, n. 18, 2023.

SOUZA, G. G. DE O. **Estrutura química da Alicina**. **ACD/ChemSketch (Freeware)**, 2024.

SOPHA, G. A. *et al.* Aerial bulbils as garlic alternative planting materials, a systematic review**. Chilean Journal Of Agricultural Research,** n. 84, 2024.

TAMENE, S. *et al*. Influence of socio-demographic factors on medicinal plant knowledge among three selected ethnic groups in south-central Ethiopia. **Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine**, v. 20, n. 1, 2024.

THOMAS, J.; MCCLEAR, T.; OMOREGIE, S. Antimicrobial potential of unstressed and heat stressed *Allium sativum.* **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 30, n. 9, 2023.

TORRES, F. S. ***Allium sativum***: Evidência Científica. *Allium sativum*: Evidência Científica, 2021. Dissertação (Mestrado integrado em Medicina) - Faculdade de Medicina, Universidade de Coimbra, Coimbra, Portugal, 2021.

VASANTHI, A. H. *et al.* Alliin the precursor of allicin in garlic extract mitigates proliferation of gastric adenocarcinoma cells by modulating apoptosis. **Pharmacognosy Magazine**, v. 14, n. 55, 2018.

VIEIRA, Renato Luís et al. Aspectos fisiológicos e fitossanitários na micropropagação para a obtenção de alho-semente livre de vírus. 2012. Tese (Doutorado em recursos genéticos vegetais) - Universidade Federal de Santa Catarina. Santa Catarina-PR, 2012.

YANG, X. *et al.* Antifungal Activity and Potential Action Mechanism of Allicin against *Trichosporon asahii*. **Microbiology spectrum**, v. 11, n. 3, 2023.

ZAINAL, M. *et al.* The antimicrobial and antibiofilm properties of allicin against *Candida albicans* and *Staphylococcus aureus* – A therapeutic potential for denture stomatitis. **The Saudi Dental Journal**, v. 33, n. 2, 2021.

ZEMEDE, J. *et al*. Ethnobotanical study of traditional medicinal plants used by the local Gamo people in Boreda Abaya District, Gamo Zone, southern Ethiopia. **Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine**, v. 20, n. 1, 2024.

ZEN, E. M.; ACRA, L. A. Biologia floral e reprodutiva de *Agapanthus africanus (L.)* Hoffmanns (*Liliaceae*). **Estudos de Biologia**, v. 27, n. 59, 2005.

ZHANG, Y. *et al.* Phytochemicals of garlic: Promising candidates for cancer therapy. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 123, n. 1, 2020.

ZHOU, Y. *et al.* Allicin in Digestive System Cancer: From Biological Effects to Clinical Treatment. **Frontiers in Pharmacology**, v. 13, n. 1, 2022.

EVALUACION DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE EXUDADOS Y FILTRADOS DE CULTIVO DE *Hirsutella citriformis* (Hypocreales: Ophiocordycipitaceae) CONTRA BACTERIAS PATÓGENAS

Data de submissão: 21/10/2024 *Data de aceite: 01/11/2024*

Maria Guadalupe Maldonado-Blanco
Universidad Autónoma de Nuevo León, Facultad de Ciencias Biológicas, Instituto de Biotecnología
Nuevo Léon, Mexico.

David Ruiz-Trejo
Universidad Autónoma de Nuevo León, Facultad de Ciencias Biológicas, Instituto de Biotecnología
Nuevo Léon, Mexico.

Myriam Elías-Santos
Universidad Autónoma de Nuevo León, Facultad de Ciencias Biológicas, Instituto de Biotecnología
Nuevo Léon, Mexico.

Teresa Pérez-Burgos
Universidad Autónoma de Nuevo León, Facultad de Ciencias Biológicas, Instituto de Biotecnología
Nuevo Léon, Mexico.

Ma.Guadalupe Maldonado Blanco
Universidad Autónoma de Nuevo León, Facultad de Ciencias Biológicas, Instituto de Biotecnología
Nuevo Léon, Mexico.

RESUMEN: En este trabajo se evaluó la actividad antibacteriana de los exudados producidos por cinco cepas del hongo entomopatógeno *Hirsutella citriformis*, así como por filtrados de cultivo líquido, y se probaron contra siete cepas bacterianas patógenas. Las cepas fúngicas se cultivaron en medio de agar papa dextrosa adicionado con extracto de levadura al 1%. Después de 30 días de incubación a 25°C se recolectaron los exudados con jeringas estériles y se conservaron en congelación hasta su uso. Para la preparación de los filtrados de cultivos, se inocularon las cepas fúngicas en caldo papa dextrosa y se incubaron en agitación a 250 rpm y 25°C durante 7 días, posteriormente se filtraron con gasa y filtros Millipore de 0.22 µm de tamaño de poro para obtener líquido libre de micelio. Por otra parte, se sembraron las especies bacterianas en cajas con agar nutritivo o agar infusión cerebro-corazón, después de los cual se colocaron discos de papel filtro estériles impregnados con 25 microlitros de cada exudado y/o filtrado de cultivo sobre los cultivos bacterianos sembrados y se incubaron a 37°C durante 24 a72 horas o más. Los resultados obtenidos indicaron que el exudado producido por las seis cepas fúngicas inhibió al menos a una

especie bacteriana probada, con rangos de inhibición desde 0.5 a 2 mm destacando la cepa Quintana Roo que causó 2 mm de inhibición del crecimiento de *Salmonella* sp y la cepa fúngica mutante 53-10 que presentó 1.5 mm de inhibición contra *Klebsiella pneumoniae*. En los resultados de filtrados de cultivo, 4 cepas fúngicas mostraron inhibición del crecimiento de al menos una especie bacteriana, destacando el filtrado de la cepa de Colima que mostró inhibición de más de 10 mm contra *L. monocytogenes y B. subtilis*, mientras que la cepa fúngica de Yucatán mostró inhibición de 2 mm contra *B. cereus* y *L. monocytogenes*.

INTRODUCCION

La mayoría de las sustancias antimicrobianas y en particular los antibióticos, son compuestos químicos producidos especialmente por hongos, bacterias, algas, líquenes y actinomicetos. A principios del siglo XX se descubre el primer antibiótico producido por hongos (penicilina) y posteriormente han seguido descubriéndose gran cantidad de sustancias antibióticas como cefalosporinas, ácido fusídico, anfotericina B, cloranfenicol, kanamicina, eritromicina, neomicina, tetraciclinas, novobiocina, vancomicina, etc. Los hongos no solo producen sustancias antimicrobianas, sino que también son capaces de producir toxinas de gran importancia debido a la posibilidad de su utilización como plaguicidas, los mismos poseen baja toxicidad en humanos, elevada acción insecticida y no necesitan requerimientos especiales para su empleo, en comparación con el uso directo de las cepas sobre los cultivos como ocurre con los hongos entomopatógenos. Además producen una amplia gama de metabolitos secundarios que exhiben una gran variedad de actividades: insecticidas, antibacterianas, antifúngicas, anticancerígenas, antioxidantes y antivirales, y se han sugerido como posibles candidatos para el desarrollo de nuevos agentes bioactivos (Isaka *et al*. 2005; Pedras *et al*. 2002; Wang y Xu, 2012).

Entre los hongos entomopatógenos se encuentra el género *Hirsutella* del cual se tiene reportes de que produce sustancias de interés microbiológico. Entre las sustancias reportadas para este género se encuentran las hirsutelinas producidas por *Hirsutella thompsonii* (Mazet, 1992) las cuales cuentan con actividad contra insectos ocasionando la muerte de los mismos; los hirsutelones producidos por *H. nívea* cuya actividad inhibe a *Mycobacterium tuberculosis* (Isaka *et al*. 2005); las oosporinas reportadas por Rosas-Acevedo *et al*. (2003) que disminuyen la ovoposición de ácaros como *Tetranychus urticae*; también se encuentran los exopolisacáridos reportados por Li *et al*. (2010) que son producidos por cepas de *Hirsutella sp.* con capacidad inhibitoria contra diversas bacterias Gram positivas y negativas pero sobre todo inhiben a *Bacillus subtilis.*

Hirsutella citriformis es un hongo que al igual que las otras especies de este género produce gran variedad de exudados cuando se le cultiva en diferentes medios de agar (Pérez-González 2015) y de los cuales solo se conoce que algunos son proteínas (exudados café rojizo y amarillo claro) y uno de ellos es un exopolisacárido (exudado cristalino) por lo cual en este trabajo se tiene como objetivo determinar la actividad antimicrobiana que

pudieran presentar algunos exudados y filtrados de cultivo líquido de cepas mexicanas de *H. citriformis* contra algunas bacterias Gram positivas y negativas de importancia médica, como *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes, Staphylococcus aureus, Klebsiella pneumoniae y Salmonella* sp.

ANTECEDENTES

Se ha encontrado que la prevalencia de organismos patógenos humanos resistentes a los antibióticos es cada vez mayor, pero el descubrimiento y desarrollo de nuevos antibióticos que controlen estos microorganismos es mucho más lento. La resistencia bacteriana es uno de los retos clínicos más grandes que hoy prevalecen porque va limitando la prescripción de antibióticos que hasta hace poco eran eficaces. La importancia del reto radica en dos variables, la primera es que cada vez más microorganismos patógenos establecen elementos de adaptación a los antibióticos que incrementan las tasas de resistencia en todo el mundo. La segunda es que en las últimas dos décadas el desarrollo de nuevos antimicrobianos ha sido muy limitado debido a que muchas compañías farmacéuticas priorizaron su campo de investigación en el desarrollo de medicamentos para la atención de enfermedades crónico-degenerativas. En la actualidad persisten las enfermedades infecciosas, así como la resistencia bacteriana ante los antibióticos. Por eso se considera un reto clínico la búsqueda de nuevos fármacos semisintéticos y sintéticos que tengan efecto sobre microorganismos resistentes, inhibiendo su crecimiento o que eviten los mecanismos de resistencia.

Con el descubrimiento del hecho de que los hongos mataban insectos, siempre se creyó que se debía a que producían sustancias cuya efectividad dependía de su toxicidad y a pesar de que se ha reportado un elevado número de metabolitos secundarios producidos por los hongos entomopatógenos, en solo una pequeña fracción de las especies y géneros conocidos, éstos han sido examinados y caracterizados. Los mismos son generalmente más pequeños que el tamaño promedio de las macromoléculas biológicas. Algunos pueden ser de estructura orgánica simple, pero con frecuencia son compuestos de estructura un poco más compleja, muchos de ellos son toxinas peptídicas cíclicas y lineales, las que se derivan de otros metabolitos primarios, en algunos casos con estructuras inusuales y acompañadas ocasionalmente de procesos de biosíntesis específicos (Díaz *et al*. 2006).

Se ha reportado la presencia de sustancias antibióticas de naturaleza peptídica excretadas por diferentes hongos entomopatógenos como es el caso de *Paecilomyces lilacinus* el cual excreta en condiciones alcalinas una sustancia tóxica denominada paecilotoxina (Isogai *et al*. 1992). De igual manera, se ha reportado la producción de antibióticos en diferentes especies del género *Verticillium* (López-Llorca, 1993).

Ha sido reportado que diferentes especies del género *Hirsutella* al ser cultivadas en fermentaciones sumergidas producen metabolitos que incluyen una variedad de proteínas

de bajo peso molecular los cuales presentan actividad contra insectos y ácaros. La toxina mejor caracterizada es producida por *H. thompsonii* la cual es una proteína, la hirsutelina A (HtA), la cual se ha aislado y secuenciado (Liu *et al*. 1995; Boucias *et al*. 1998).

Rosas-Acevedo *et al*. (2003) encontraron que *H. thompsonii* secretó metabolitos que eran acaricidas contra *Tetranychus urticae*. Prepararon proteínas de exudados derivados del cultivo sólido y filtrados derivados de caldo, los precipitaron con el mismo volumen de amonio para conservarlos en temperatura subzero. Los precipitados los sometieron a una centrifugación mientras que los pellets los disolvieron en un buffer para desnaturalizarlos con ebullición. En la cromatografía de columna no encontraron niveles detectables de HtA; sin embargo, en los bioensayos descubrieron que a mayor concentración de los exudados, mayor inhibición en la ovoposición de los ácaros.

También se ha reportado la producción de sustancias llamadas hirsutelones en *H. nivea* (Madla *et al*. 2008) con actividad sobre *Mycobacterium tuberculosis,* y en diversas cepas de *Hirsutella* sp. se reporta la producción de exopolisacáridos con actividad antibacteriana sobre bacterias Gram positivas como son *Bacillus subtilis* y *Micrococcus tetragenus* (Li *et al*. 2010). Estos metabolitos se obtienen del cultivo del hongo en medios líquidos pero también se ha observado que se producen gotas denominadas exudados cuando se les cultiva en medios de agar (Cabrera y López, 1977; Samson *et al*., 1980).

En este trabajo se evaluó la actividad antibacteriana presentada por los exudados y filtrados de cultivo libres de micelio producidos por seis cepas mexicanas de *Hirsutella citriformis* Speare contra siete cepas bacterianas patógenas.

MATERIAL Y METODOS

1.-Conservación y cultivo de las cepas bacterianas y fúngicas. Las cepas de *Bacillus cereus, Bacillus subtilis*, *Escherichia coli, Listeria monocytogenes, Salmonella sp.* y *Staphylococcus aureus s*e conservaron en tubos con agar nutritivo inclinado en refrigeración a 4°C y se hicieron resiembras mensuales en el mismo medio.

Por otra parte, se utilizaron tres cepas de *H. citriformis*, INIFAP-Hir-5 (Quintana Roo), INIFAP-Hir-2(Yucatán), IB-Hir-2 (Colima) y dos cepas mutantes, denominadas 53-10 y 103, obtenidas de la cepa silvestre INIFAP-Hir-2 originaria de Yucatán, mutadas de acuerdo al procedimiento reportado por Cruz-Juárez *et al*. (2018) las cuales se mantuvieron en el medio agar papa dextrosa (PDA) adicionada con 1% de extracto de levadura y Agar Sabouraud con 0.5% de extracto de levadura.

2. Colecta de los exudados. Cada una de las diferentes cepas fúngicas se resembraron en suficientes cajas Petri para poder obtener una cantidad apreciable de exudados. Para colectar los exudados se observaron los cultivos sólidos en el estereoscopio, y se colectaron con mucho cuidado los exudados producidos mediante jeringas de insulina los cuales se depositaron en tubos cónicos de 1.5 ml y se guardaron en congelación hasta su utilización

en las pruebas de inhibición.

3. Pruebas preliminares de los exudados. Se hizo una mezcla de todos los exudados producidos por cada cepa fúngica, homogeneizándolos con 1 ml de agua destilada estéril para recogerlos de la placa, después se impregnaron discos de papel filtro estériles de 1 cm de diámetro, con 10 µl de la mezcla de exudados. Posteriormente se sembraron los cultivos de las diferentes cepas bacterianas en cajas Petri con agar nutritivo o agar infusión cerebro-corazón, mediante extensión con asa de vidrio, se colocaron cuatro discos de papel filtro en cada caja y se incubaron por 24 horas a 37°C. Cada experimento se hizo por cuatriplicado. Posteriormente se observaron las placas para determinar las zonas de inhibición producidas.

4.- Pruebas de Inhibición antibacteriana de cada exudado producido. De acuerdo a los resultados de inhibición preliminar, aquellos que presentaron resultado positivo se analizaron por separado para cada uno de los exudados producidos y se confrontaron con las diferentes cepas bacterianas, midiendo las diferentes zonas de inhibición presentadas.

5.-Producción de cultivos líquidos y filtrado de cultivos. Las diferentes cepas fúngicas se cultivaron en medio líquido de papa dextrosa durante un periodo de 7 días a temperatura de 25°C y 250 rpm de agitación. Después del tiempo de incubación se filtraron a través de gasa, para separar el micelio, posteriormente se tomaron 10 ml del líquido restante y se filtraron a través de membrana Millipore de 0. 22 µm de tamaño de poro. El líquido resultante se guardó en congelación hasta la realización de las pruebas de inhibición.

6.- Pruebas de Inhibición del crecimiento bacteriano por los filtrados fúngicos. Se tomaron 10 µl de los filtrados de cada cepa y se impregnaron discos de papel filtro estériles de 1 cm de diámetro, los cuales se colocaron sobre cada uno de los cultivos bacterianos inoculados por extensión. Se incubaron por 24 -72 h o en algunos casos hasta 6 días a 37°C. Posteriormente se observaron las placas para determinar y medir las zonas de inhibición producidas. Cada experimento se realizó por cuatriplicado.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En las pruebas preliminares al menos un exudado producido por cada una de las tres cepas silvestres y dos mutadas de *Hirsutella citriformis* produjeron inhibición bacteriana de al menos una cepa patógena con rangos de inhibición de 0.5 a 2 mm, con excepción de la cepa mutante 103, cuyos exudados no causaron ninguna inhibición contra las cepas probadas. Como se muestra en la Tabla 1, el exudado producido por la cepa *H. citriformis* de Quintana Roo produjo la mayor inhibición contra *Salmonella* sp de 2 mm, seguida de la cepa *H. citriformis* mutante 53-10 que causó 1.5 mm de inhibición contra *K. pneumoniae*. Los exudados producidos por las restantes cepas probadas produjeron 0.5 mm de inhibición contra las cepas bacterianas probadas, excepto los exudados producidos por la cepa mutante 103, que no produjo ninguna inhibición; mientras que el exudado producido por la

cepa de Yucatán ocasionó la inhibición de la cepa de *E. coli* solamente.

Cepa fúngica	*L. monocy togenes*	*B. subtilis*	*B. cereus*	*E. coli*	*Salmonella*	*K pneumoniae*	*Tiempo*
Colima	0.5	-	0.5	0.5	0.5	-	48 h
Yucatán	-			0.5	-	-	48 h
Mutante 53-10	0.5	0.5	-	0.5	0.5	1.5	48 h
Q. Roo	0.5	-	-	-	2	-	48 h

Tabla 1. Inhibición antibacteriana (mm) presentada por exudados obtenidos en cultivo sólido de varias cepas de *Hirsutella citriformis* mexicanas.

En las pruebas de inhibición contra diversas cepas de bacterias patógenas, mostradas en la Tabla 2, los filtrados de cultivo líquido libres de micelio mostraron resultados diversos donde la mayor inhibición que se registró fue con el filtrado de la cepa de *H. citriformis* de Colima, de 10-15 mm contra *L. monocytogenes*, despues de 6 días de incubación, mostrando inhibición desde las 48 h y aumentando progresivamente con el paso del tiempo.

Cepa fúngica	*L. monocytogenes*	*B. subtilis*	*B. cereus*	*Salmonella sp*	*E. coli*	*K pneumoniae*	*Tiempo*
Colima	2	4	1.5	1	1	1	48 h
Yucatán	2	2	2	0			48 h
Mutante 53-10	-	1	4	1	-	-	48 h
Mutante 103	1	1.5	1.5	0	-	-	48 h
Colima	5-10	5-7	2	1	1	1	72
Yucatán	2-3	2	2		1	-	72
Mutante 53-10	-	1	1	1	-	-	72
Mutante 103	3	1.5	2	0	-	-	72
Colima	10-15	10	2	1	1	-	6 d
Yucatán	2-3	2	2	0	1	-	6 d
Mutante 53-10	-	1	4	1	-	-	6 d
Mutante 103	4-5	2	2	0	-	-	6 d

Tabla 2. Inhibición antibacteriana (mm) presentada por filtrados de cultivos de varias cepas mexicanas de Hirsutella citriformis.

También la mutante 103 mostró inhibición de 4-5 mm después de 6 dìas de incubación, aumentando paulatinamente desde las 48 horas. De hecho, casi todos los filtrados de cultivos mostraron inhibición, contra *L. monocytogenes*, excepto los filtrados de la cepa mutante 53-10. En las pruebas contra *B. subtilis*, de igual manera, el filtrado de la cepa de *H. citriformis* de Colima mostró la mayor inhibición de 10 mm después de 6 días de incubación, también aumentando con el paso del tiempo de incubación. En segundo

lugar, los filtrados de la cepa de Yucatán mostraron inhibición de 2 mm contra *B. subtilis* sin embargo, la zona de inhibicion no aumentó al transcurso del tiempo. Contra la misma bacteria, los filtrados de cultivos de las cepas mutantes mostraron mínima inhibicion de 1-2 mm después de 6 días de incubación. Los resultados de inhibición contra *B. cereus* fueron variables para los distintos filtrados donde se mostró la mayor inhibicion de 4 mm presentada por la cepa mutante 53-10, a los 6 días de incubación, los restantes filtrados presentaron de 1-2 mm de inhibición. Las pruebas contra *Salmonella* sp presentaron bajos niveles de inhibición de 1 mm solamente con los filtrados de las cepas de Colima y la mutante 53-10, a cualquier tiempo de incubación, los restantes filtrados de cultivos no mostraron inhibición. En las pruebas contra E. coli, solamente los filtrados de las cepas de Colima y de Yucatàn presentaron una leve inhibición de 1 mm en 48 horas o máss de incubación. Por último, contra *K. pneumoniae*, solo el filtrado de la cepa de Colima presentó mínima inhibición de 1 mm después de 48-72 h de incubación.

Se han reportado diversos metabolitos producidos por cepas de *Hirsutella* sp en cultivos líquidos, tales como la la hirsutelina A (HtA), la cual se ha aislado y secuenciado por Liu *et al*. (1995) y Boucias *et al*. (1998). Del mismo modo han sido caracterizadas varias sustancias de tipo exopolisacáridos con actividad antibacteriana sobre bacterias Gram positivas como son *Bacillus subtilis* y *Micrococcus tetragenus* (Li *et al*. 2010). Estos metabolitos se obtienen del cultivo del hongo en medios líquidos, como fue nuestro caso, solo que a diferencia de este ultimo autor, los filtrados de cultivos presentaron inhibición, aunque mínima, contra bacterias Gram negativas como *E. coli* o *Salmonella sp*, mientras que las mayores inhibiciones obtenidas de filtrados de cultivos de cepas de *Hirsutella citriformis* mexicanas fueron contra *L. monocytogenes* y *B. subtilis* que son bacterias Gram positivas y en esto concuerdan con resultados de Liu et al. (2010) contra este tipo de bacterias.

En nuestro caso sería interesante caracterizar el tipo de sustancias que ejercen esta inhibición por lo cual, en un trabajo posterior esto podría realizarse con el fin de encontrar nuevas sustancias antibióticas que pudieran utilizarse en el control de diferentes especies patógenas causantes de enfermedades en humanos y animales debido a que existe una resistencia incrementada hacia los antibióticos usualmente utilizados. Por eso se considera muy importante la búsqueda de nuevos fármacos semisintéticos y sintéticos, o que deriven de plantas o microorganismos que tengan efecto sobre bacterias resistentes, inhibiendo su crecimiento o que eviten los mecanismos de resistencia.

Fig. 1. Cultivos de *L. monocytogenes* mostrando la inhibición causada por filtrados de cultivo de *H. citriformis* IB-Hir 2 (Colima), así como *B. subtilis* también con filtrado de cultivo de *H. citriformis* de Colima y por **último** cultivo de *L. monocytogenes* con filtrado de la cepa mutante 103 de *H. citriformis*.

AGRADECIMIENTOS

Al Programa de Apoyo a la Investigación Científica y Tecnológica (PAICYT) de la Universidad Autónoma de Nuevo León (UANL) por el financiamiento parcial del Proyecto Paicyt CN 924-19

REFERENCIAS

Boucias DG, Farmerie WG. and Pendland JC. 1998. Cloning and Sequencing of cDNA of the Insecticidal Toxin Hirsutellin A. Journal of Invertebrate Pathology, 72:258–261.

Cabrera RI. and López A. 1977. Estudio sobre la conservación de la flora micológica de los cítricos en Cuba. Cien. Tec. Agric. Serie Cítricos y Otros Frutales 1: 97–112 (In spanish).

Cruz-Juarez G., Maldonado-Blanco M.G., Rodríguez-Guerra R., De la Torre-Zavala S., Avilés Arnaut H., Flores-González M.S. 2018. Mutation to Increase Sporulation of a Strain of *Hirsutella citriformis* from Mexico and Evaluation against *Diaphorina citri.* Southwestern Entomologist 43: 891-904.

Díaz MP, Macías AF, Navarro SR. y De la Torre M, 2006. Mecanismo de acción de los hongos entomopatógenos. Interciencia: Revista de Ciencia y Tecnología de América, 31: 856-860. (In spanish).

Isaka M, Rugseree N, Maithip P, Kongsaeree P, Prabpai S. and Thebtaranonth Y, 2005. Hirsutellones A–E, antimicobacterial alkaloids from the insect pathogenic fungus *Hirsutella nivea* BCC 2594, 2005. Tetrahedron, 61:5577–5583.

Isogai A, Nakayama I, Takayama S, Kusai A. and Susuki A, 1992. Structural elucidation of minor components of peptidyl antibiotic P168s (leucinostatins) by tandem mass spectrometry. Bioscience, 57:1079-1085

Li R, Jiang X and Guan H. 2010. Optimization of mycelium biomass and exopolysaccharides production by *Hirsutella* sp. In submerged fermentation and evaluation of exopolysaccharides antibacterial activity. African Journal of Biotechnology, 9:195-202.

Liu WZ, Boucias DG. and McCoy CW. 1995. Extraction and characterization of the insecticidal toxin Hirsutellin A produced by *Hirsutella thompsonii* var. *thompsonii*. Experimental Mycology, 19:254-262.

López-Llorca L.V. and Boag B, 1993. Biological properties of a red pigment produced by the nematophagous fungus *Verticillium suchlasporium*. Mediterranean Nematology 21:143-149.

Madla S, Isaka M. and Wongsa P, 2008. Modification of culture conditions for production of the anti-tubercular hirsutellones by the insect pathogenic fungus *Hirsutella nivea* BCC 2594. Letters in Applied Microbiology, 47:74-78.

Mazet I, 1992. Recherches sur les hirsutellines, toxines protéiques produites par *Hirsutella thompsonii* Fisher, champignon pathogène d'acariens phytophages. Université de Montpellier, Le discipline: Microbiologie, 146

Pedras M.S.C, Zaharia L.I. and Ward D.E, 2002. The destruxins: synthesis, biosynthesis, biotransformation and biological activity. Phytochemistry, 59:579-596.

Pérez-González O. 2015. Aislamiento, producción y evaluación de la patogenicidad de cepas de *Hirsutella citriformis* Speare para el control de *Diaphorina citri* Kuwayama, vector de la enfermedad Huanglongbing de los cítricos. Tesis inédita de Doctorado Facultad de Ciencias Biológicas UANL.Mexico.

Rosas-Acevedo J, Boucias D.G, Lezama R, Sims K. and Pescador A. 2003. Exudate from sporulating cultures of *Hirsutella thompsonii* inhibit oviposition by the two-spotted spider mite *Tetranychus urticae*. Experimental and Applied Acarology 29:213-225.

Samson R.A, McCoy C.W. and O'Donnell K.L, 1980. Taxonomy of the acarine parasite *Hirsutella thompsonii*. Micologia, 72:359–377

Wang B, Wu W. and Liu X, 2007. Purification and characterization of a neutral serine protease with nematicidal activity from *Hirsutella rhossiliensis*. Mycopathologia 163:169–176.

CLÉCIO DANILO DIAS DA SILVA - Doutor em Sistemática e Evolução (2023) e Mestre em Ensino de Ciências Naturais e Matemática (2018) pela Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN). Além disso, possui especialização em Ensino de Ciências Naturais e Matemática (2017), Educação Ambiental e Geografia do Semiárido (2019) e Gestão Ambiental (2021) pelo Instituto Federal do Rio Grande do Norte (IFRN). É licenciado em Ciências Biológicas (2016) pelo Centro Universitário Facex (UNIFACEX) e em Pedagogia (2021) pelo Centro Universitário Internacional UNINTER. Atualmente, é docente dos componentes curriculares de Ciências e Biologia pela Secretaria de Estado da Educação (SEEC-RN) e Secretaria Municipal de Educação, Cultura e Esporte (SECE) de Barra de Maxaraguape-RN. Está vinculado ao Laboratório de Sistemática de Collembola (COLLEMBOLAB) do Departamento de Botânica e Zoologia do Centro de Biociências (DBEZ-CB), onde conduz pesquisas envolvendo Ecologia taxonômica, funcional e descrições de novas espécies de Collembola. Sua trajetória profissional e acadêmica abrange experiência em Zoologia de Invertebrados, Ecologia aplicada, Fauna edáfica, Taxonomia e Ecologia de Collembola; Ensino de Ciências e Educação Ambiental.

DANIELE BEZERRA DOS SANTOS - Graduada em Ciências Biológicas (2005), Mestrado em Ecologia (2007) e Doutorado em Psicobiologia (2013) pela Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN). Docente e pesquisadora do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio Grande do Norte (IFRN), Campus Pau dos Ferros. Atualmente é Assessora Técnica de Gestão de Projetos, junto a Pró-Reitoria de Planejamento e Desenvolvimento Institucional (PRODES/IFRN). Anteriormente, atuou como: Coordenadora de Pesquisa e Inovação - COPEIN/IFRN (2020-2021); Coordenadora do Curso de Pós-Graduação Lato sensu Especialização em ensino de Ciências Naturais e Matemática (2019-2020); Coordenadora de Pesquisa e Extensão do Centro Universitário Facex (UniFacex); Coordenadora do curso de graduação Licenciatura em Ciências Biológicas; Coordenadora dos cursos de Pós Graduação Lato sensu (Especialização) em “Meio Ambiente e Gestão de Recursos Naturais” (UniFacex) e do curso de Especialização em “Microbiologia e Parasitologia” (UniFacex). Atuou como Bolsista pela CAPES na função de Coordenadora Institucional do PIBID Edital 61/2013, de 2014 a 2018. Áreas de interesse: Ensino, Meio Ambiente, Comportamento Animal.

A

B

C

T

V

Z

Explorando a vida em uma jornada pelas

CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

www.atenaeditora.com.br

contato@atenaeditora.com.br

@atenaeditora

www.facebook.com/atenaeditora.com.br

Ano 2024

Explorando a vida em uma jornada pelas

CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

www.atenaeditora.com.br

contato@atenaeditora.com.br

@atenaeditora

www.facebook.com/atenaeditora.com.br

Ano 2024